

Universidade de Lisboa  
Faculdade de Ciências  
Departamento de Biologia Animal



**Rastreio parasitológico em aves selvagens de zonas periurbanas do  
Litoral e Interior de Portugal**

**André Filipe Ventura Tomás**

Dissertação  
Mestrado em Biologia Humana e Ambiente

**2014**



Universidade de Lisboa  
Faculdade de Ciências  
Departamento de Biologia Animal



**Rastreio parasitológico em aves selvagens de zonas periurbanas do  
Litoral e Interior de Portugal**

**André Filipe Ventura Tomás**

Dissertação  
Mestrado em Biologia Humana e Ambiente

Orientadores: Professora Doutora Maria Teresa Rebelo  
Professora Doutora Isabel Pereira da Fonseca

**2014**



“Até uma estrada com milhares de quilómetros  
começa com um único passo”.

Provérbio chinês



## **Agradecimentos**

Aos meus orientadores, Professora Doutora Maria Teresa Rebelo e Professora Doutora Isabel Pereira da Fonseca, por todo o apoio, compreensão e ensinamentos durante todos os meses de trabalho. Obrigado pela confiança depositada no meu trabalho.

A toda a equipa do RIAS, trabalhadores e voluntários, pela transmissão de conhecimentos na manipulação de aves e recolha de amostras. Obrigado pela amizade e companheirismo.

A toda a equipa do CERVAS, particularmente ao Ricardo Brandão pela cedência de material sem o qual parte deste trabalho não seria possível.

Ao Thijs Valkenburg por ceder parte das suas noites, para a realização das sessões de anilhagem, essenciais ao trabalho. Obrigado pela paciência e ensinamentos.

À Dra. Lúcia Gomes por todo o auxílio na execução das técnicas laboratoriais. Aos meus colegas Bernardo Melo Franco, Carla Alves, Sílvia Leal e Rita Cameira por todas as horas de trabalho no laboratório, sempre acompanhadas de uma boa conversa. Ao Sergian Cardozo por me apresentar ao mundo das coccídias.

Ao Dr. Ricardo L. Palma (Museu da Nova Zelândia Te Papa Tongarewa), Doutor Jonathan Eisenback (Instituto Politécnico e Universidade Estadual da Virgínia), Doutor Sergey V. Mironov (Instituto Zoológico da Academia Russa de Ciências), Doutor Mário Boieiro (Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa) e Mestre Telmo Nunes (Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa) pela sua contribuição.

À Sviatlana Bystrova e Aleh Ivanou pela colaboração na tradução de bibliografia russa.

A todos os meus amigos, pelo incentivo e apoio incondicional.

A toda a minha família, em particular, aos meus pais e irmãos, que mesmo olhando com desconfiança para os parasitas, sempre me apoiaram e proporcionaram condições para a realização deste trabalho.

À minha namorada, pela paciência e apoio inestimável, fundamentais durante todo o processo. Obrigado por me manteres são, nos momentos de maior *stress*.



### **Publicações resultantes deste trabalho**

Tomás, A., Palma, R. L., Rebelo, M. T., da Fonseca, I. P., (2014). Malófagos em aves selvagens no Sul de Portugal. *Acta Parasitológica Portuguesa* 20 (1/2): 124-125.

(Formato comunicação oral apresentada no XVII Congresso Português de Parasitologia – Anexo I)

Tomás, A., Rebelo, M. T., da Fonseca, I. P., (2014) Pesquisa de hemoprotozoários em aves selvagens de Portugal. *Acta Parasitológica Portuguesa* 20 (1/2): 160-161.

(Formato poster apresentado no XVII Congresso Português de Parasitologia – Anexo II)

Este trabalho foi redigido não seguindo as regras do Acordo Ortográfico da Língua Portuguesa de 1990.

As citações e referências bibliográficas efectuadas ao longo do trabalho encontram-se de acordo com as normas do *Journal of Wildlife Diseases*.



## Índice

Agradecimentos .....	iii
Publicações resultantes deste trabalho .....	v
Índice de Figuras .....	xi
Índice de Tabelas .....	xv
Índice de abreviaturas e símbolos.....	xvii
Resumo .....	xix
Abstract.....	xxi
1. Introdução .....	1
1.1. As Aves, a sua distribuição e ecologia .....	1
1.2. Hemoparasitas .....	13
1.2.1. Descrição dos diferentes géneros de hemoparasitas e respectivos ciclos de vida .....	14
1.2.1.1. <i>Haemoproteus</i> .....	14
1.2.1.2. <i>Plasmodium</i> .....	17
1.2.1.3. <i>Leucocytozoon</i> .....	23
1.2.1.4. <i>Trypanosoma</i> .....	26
1.2.1.5. <i>Hepatozoon</i> .....	26
1.2.1.6. <i>Babesia</i> .....	27
1.2.1.7. <i>Atoxoplasma</i> .....	28
1.2.1.8. Microfilárias .....	28
1.2.2. Papel das migrações na dispersão de hemoprotozoários .....	29
1.2.3. Patogenia e Impacto dos hemoparasitas em aves selvagens .....	30
1.2.4. Imunidade e Resistência natural a hemoparasitas.....	33
1.2.5. Detecção dos hemoparasitas .....	34
1.3. Ectoparasitas .....	35
1.3.1. Descrição dos ectoparasitas mais comuns e respectivos ciclos de vida.....	35
1.3.1.1. Piolhos .....	35
1.3.1.2. Ácaros.....	37
1.3.2. Patogenia e Impacto dos ectoparasitas nas aves selvagens.....	38
1.3.3. Imunidade e Resistência natural a ectoparasitas .....	40
1.3.4. Detecção de ectoparasitas .....	41
1.4. Helmintes.....	42
1.4.1. Descrição dos helmintes mais representativos e respectivos ciclos de vida.....	42

1.4.1.1. Nemátodes .....	42
1.4.1.1.1. Ascaridoidea .....	43
1.4.1.1.2. Acuarioidea.....	44
1.4.1.2. Céstodes.....	46
1.4.1.2.1. Cyclophyllidea.....	46
1.4.1.2.2. Tetrabothriidea.....	47
1.4.1.2.3. Pseudophyllidea.....	47
1.4.1.3. Tremátodes .....	48
1.4.1.4. Acantocéfalos .....	48
1.4.2. Patogenia e Impacto dos helmintes nas aves selvagens.....	49
1.4.3. Imunidade e Resistência natural a helmintes .....	50
1.4.4. Detecção dos helmintes .....	51
1.5. Objectivos.....	52
2. Metodologia.....	53
2.1. Material e Métodos.....	53
2.2. Caracterização das áreas geográficas em estudo respectivo clima.....	53
2.2.1. Parque Natural da Ria Formosa .....	54
2.2.2. Parque Natural da Serra da Estrela .....	55
2.3. Caracterização da amostra.....	56
2.4. Colheita das amostras .....	56
2.4.1. Colheita de sangue periférico .....	56
2.4.2. Colheita de ectoparasitas.....	57
2.4.3. Colheita de helmintes.....	58
2.5. Processamento das amostras.....	58
2.5.1. Preparação, fixação e coloração do esfregaço sanguíneo .....	58
2.5.2. Preparação das amostras de ectoparasitas.....	59
2.5.3. Preparação das amostras de helmintes .....	61
2.6. Identificação dos géneros parasitários .....	62
2.7. Análise estatística .....	63
3. Resultados.....	67
3.1. Espécies de aves amostradas .....	67
3.2. Sexo das aves amostradas.....	69
3.3. Idade das aves amostradas .....	69

3.4. Proveniência das aves amostradas .....	70
3.5. Concelho de proveniência das aves amostradas .....	70
3.6. Resultados da pesquisa de hemoparasitas .....	72
3.7. Resultados da pesquisa de ectoparasitas.....	79
3.8. Resultados da pesquisa de helmintos.....	87
4. Discussão .....	101
5. Conclusões e perspectivas futuras .....	111
6. Referências bibliográficas .....	113
Anexos.....	129
Anexo I .....	129
Anexo II .....	130
Anexo III.....	132
Anexo IV.....	133
Anexo V .....	135
Anexo VI.....	136
Anexo VII .....	137
Anexo VIII.....	118
Anexo IX.....	121
Anexo X.....	125



## Índice de Figuras

Figura 1 – Vectores <i>Culicoides</i> sp. e <i>Pseudolynchia</i> sp. responsáveis pela transmissão do género <i>Haemoproteus</i> .....	15
Figura 2 – Vector <i>Culex</i> sp. responsável pela transmissão do género <i>Plasmodium</i> .....	18
Figura 3 – Representação esquemática do ciclo de vida de hemosporídeos do género <i>Plasmodium</i> .....	19
Figura 4 – Representação esquemática da dinâmica da parasitémia da malária aviária.....	22
Figura 5 – Vector <i>Simulium</i> sp. responsável pela transmissão do género <i>Leucocytozoon</i> .....	24
Figura 6 – Mapa de Portugal Continental com a localização exacta dos locais de amostragem.....	53
Figura 7 – Representação esquemática da técnica do esfregaço em cunha.....	59
Figura 8 – Esfregaço sanguíneo de ave, antes e após a coloração <i>Wright Giemsa</i> .....	59
Figura 9 – Forma de identificação das lâminas com exemplares de malófagos.....	61
Figura 10 – Número de aves amostrados consoante a espécie e agrupadas na respectiva ordem.....	68
Figura 11 – Percentagem de aves amostradas consoante o sexo.....	69
Figura 12 – Percentagem de aves amostradas consoante a idade.....	69
Figura 13 – Percentagem de aves amostradas consoante a proveniência.....	70
Figura 14 – Mapa com a dimensão da população amostrada nos concelhos da região Norte e Sul de Portugal.....	71
Figura 15 – Aspecto dos diferentes géneros de hemoprotozoários observados.....	72
Figura 16 – Taxa de prevalência dos géneros de hemoparasitas observados.....	74
Figura 17 – Número de aves hemoparasitadas de acordo com a ordem a que pertencem.....	74
Figura 18 – Taxa de prevalência dos géneros de hemoparasitas identificados nas oito ordens de aves estudadas.....	75
Figura 19 – Taxa de prevalência dos géneros de hemoparasitas, consoante a região de proveniência da ave.....	76
Figura 20 – Prevalência de infecção pelos géneros parasitários identificados nas aves dos centros de recuperação, nomeadamente do RIAS e do CERVAS.....	77

Figura 21 – Prevalência de infecção pelos géneros parasitários identificados nas aves da região Sul, nomeadamente do RIAS e de sessões de anilhagem científica.....	77
Figura 22 – Taxa de prevalência dos géneros de hemoparasitas, consoante a idade das aves.....	78
Figura 23 – Número de aves parasitadas por malófagos de acordo com ordem a que pertencem.....	80
Figura 24 – <i>Actornithophilus piceus lari</i> .....	82
Figura 25 – <i>Actornithophilus umbrinus</i> .....	82
Figura 26 – <i>Austromenopon lutescens</i> .....	82
Figura 27 – <i>Colpocephalum heterossoma</i> .....	82
Figura 28 – <i>Colpocephalum turbinatum</i> .....	82
Figura 29 – <i>Craspedorrhynchus platystomus</i> .....	82
Figura 30 – <i>Degeeriella fulva</i> .....	83
Figura 31 – <i>Eidmanniella pustulosa</i> .....	83
Figura 32 – <i>Falcolipeurus quadripustulatus</i> .....	83
Figura 33 – <i>Laemobothrion maximum</i> .....	83
Figura 34 – <i>Laemobothrion vulturis</i> .....	83
Figura 35 – <i>Lunaceps schismatus</i> .....	83
Figura 36 – <i>Nosopon casteli</i> fêmea.....	84
Figura 37 – <i>Pectinopygus bassani</i> .....	84
Figura 38 – <i>Pseudomenopon pilosum</i> .....	84
Figura 39 – <i>Strigiphilus</i> sp. ....	84
Figura 40 – <i>Trinoton femoratum</i> .....	84
Figura 41 – <i>Trinoton querquedulae</i> .....	84
Figura 42 – Taxa de prevalência de malófagos, consoante a sua proveniência.....	85
Figura 43 – Taxa de prevalência de malófagos, consoante a idade das aves.....	85
Figura 44 – Taxa de prevalência de malófagos, consoante a sociabilidade das aves.....	86
Figura 45 – Fotomicrografia do ácaro <i>Alloptes calidridis</i> .....	86
Figura 46 – Fotomicrografia de coleóptero da tribo Ptiliini.....	86
Figura 47 – Número de aves parasitadas por helmintes de acordo com ordem a que pertencem.....	87
Figura 48 – Aspectos morfológicos de fêmeas do género <i>Contracaecum</i> .....	89
Figura 49 – Aspectos morfológicos de fêmeas do género <i>Contracaecum</i> obtidas por microscopia electrónica de varrimento.....	90



Figura 50 – Aspectos morfológicos de fêmeas do género <i>Porrocaecum</i> .....	91
Figura 51 – Aspectos morfológicos de fêmeas do género <i>Porrocaecum</i> obtidas por microscopia electrónica de varrimento.....	92
Figura 52 – Aspectos morfológicos de <i>Synhimantus (Dispharynx) nasuta</i> .....	93
Figura 53 – Aspectos morfológicos de <i>Synhimantus (S.) laticeps</i> .....	94
Figura 54 – Aspectos morfológicos de <i>Desportesius invaginatus</i> .....	95
Figura 55 – Aspectos morfológicos de macho de <i>Cosmocephalus obvelatus</i> .....	96
Figura 56 – Aspectos morfológicos dos céstodes identificados.....	97
Figura 57 – Aspectos morfológicos de escóleces dos céstodes observados por microscopia electrónica de varrimento.....	98
Figura 58 – Taxa de prevalência de helmintes, consoante a idade das aves.....	99



## **Índice de Tabelas**

Tabela 1 – Aspectos da ecologia e fenologia das espécies de aves estudadas relevantes para explicar a possível exposição a parasitas.....	5
Tabela 2 – Prevalência de hemoparasitas, consoante a fenologia das aves.....	79
Tabela 3 – Espécies de malófagos identificados nas aves e respectiva prevalência. ....	80
Tabela 4 – Prevalência de malófagos, consoante a fenologia das aves. ....	86
Tabela 5 – Helmintes identificados nas aves e respectiva prevalência e intensidade média. ....	88
Tabela 6 – Prevalência de helmintes, consoante a fenologia das aves. ....	99



## Índice de abreviaturas e símbolos

%	Porcentagem
$\frac{1}{4}$	Um quarto
°C	Graus Celsius
©	<i>Copyright</i>
®	Registada
™	Marca registada
µm	Micrómetros
mm	Milímetros
mL	Mililitros
≤	Menor ou igual
$n$	Número observado
$p$	<i>p-value</i>
$\chi^2$	Valor de <i>Qui-Quadrado</i>
CERVAS	Centro de Ecologia, Recuperação e Vigilância de Animais Selvagens
HD	Hospedeiro(s) definitivo(s)
HI	Hospedeiro(s) intermediário(s)
HP	Hospedeiro(s) paraténico(s)
i.e.	Isto é
ICNF	Instituto da Conservação da Natureza e das Florestas
L2	Segundo estágio larvar
L3	Terceiro estágio larvar
L4	Quarto estágio larvar
MEV	Microscópio electrónico de varrimento
OMS	Organização Mundial de Saúde
PCR	Reacção de Polimerização em Cadeia
PNRF	Parque Natural da Ria Formosa
PNSE	Parque Natural da Serra da Estrela
RIAS	Centro de Recuperação e Investigação de Animais Selvagens



## Resumo

Os hemoparasitas, os helmintes e os ectoparasitas, nomeadamente os malófagos, são parasitas comuns de aves selvagens apresentando uma distribuição relativamente cosmopolita. Considerando a escassez de estudos nesta temática em Portugal, pretendeu-se com este trabalho contribuir para o aumento do conhecimento sobre a prevalência de hemoparasitas, helmintes e ectoparasitas em aves selvagens e da forma com esta é influenciada pela região de proveniência dos indivíduos, a sua ordem, idade, fenologia e conduta social das aves.

Entre Setembro e Dezembro de 2013 foram recolhidas, amostras de sangue, ectoparasitas e helmintes de aves selvagens pertencentes a 11 ordens (Accipitriformes, Anseriformes, Bucerotiformes, Caprimulgiformes, Charadriiformes, Gruiformes, Passeriformes, Pelecaniformes, Phoenicopteriformes, Strigiformes e Suliformes) admitidas no Centro de Ecologia, Recuperação e Vigilância de Animais Selvagens (CERVAS), no Centro de Recuperação e Investigação de Animais Selvagens (RIAS), e capturadas em duas sessões de anilhagem científica no Parque Natural da Ria Formosa. Estas amostras foram devidamente conservadas, processadas e analisadas com recurso a técnicas microscópicas.

A prevalência total de infecção por pelo menos um hemoprotozoário foi de 33,59% (43/128), tendo sido identificados 4 géneros: *Haemoproteus*, *Leucocytozoon*, *Plasmodium* e *Trypanosoma*. A prevalência total de infestações por malófagos foi de 21,31% (26/122), tendo sido identificadas 18 espécies. A prevalência total de infecção por helmintes foi de 54,55% (12/22), tendo sido identificados 9 géneros de nemátodes e 3 géneros de céstodes. Verificaram-se associações estatisticamente significativas na prevalência de hemoparasitas consoante a ordem, a idade e a região de proveniência das aves bem como na prevalência de malófagos consoante a ordem das aves e a sua conduta social.

Embora a maioria das associações parasita-hospedeiro identificadas neste estudo já se encontrarem descritas na literatura internacional, identificaram-se o que se sabe, pela primeira vez a nível mundial, um coleóptero da tribo Ptiliini num Grifo (*Gyps fulvus*) e um nemátode do género *Porrocaecum* numa Águia-de-Bonelli (*Aquila fasciata*). Ao que se sabe trata-se da primeira identificação em Portugal, do ácaro *Alloptes calidridis* bem como de todas as espécies de malófagos (*Actornithophilus piceus lari*, *Actornithophilus umbrinus*, *Austromenopon lutescens*, *Colpocephalum*

*heterossoma*, *Colpocephalum turbinatum*, *Craspedorrhynchus platystomus*, *Degeeriella fulva*, *Eidmanniella pustulosa*, *Falcolipeurus quadripustulatus*, *Laemobothrion maximum*, *Laemobothrion vulturis*, *Luniceps schismatus*, *Nosopon casteli*, *Pectinopygus bassani*, *Pseudomenopon pilosum*, *Strigiphilus* sp., *Trinoton querquedulae* e *Trinoton femoratum*) e de helmintes (*Contracaecum* sp., *Porrocaecum* sp., *Synhimantus* (*Dispharynx*) *nasuta*, *Synhimantus* (S.) *laticeps*, *Desportesius invaginatus*, *Cosmocephalus obvelatus*, *Neyraia* sp., e *Diplophallus* sp.), com excepção do género *Tetrabothrius*, já identificado em outro hospedeiro. Estes resultados contribuem de forma inequívoca para uma visão alargada sobre a infecção por hemossporídeos e helmintes, e as infestações por malófagos, de aves selvagens em Portugal.

**Palavras-chave:** Aves selvagens, Hemoparasitas, Helmintes e Malófagos



## Abstract

Hemoparasites, helminths and ectoparasites, especially chewing lice, are common parasites of wild birds presenting a relatively cosmopolitan distribution. Considering the scarcity of studies on this subject in Portugal, the aim of this work is to contribute for increased knowledge about the prevalence of hemoparasites, helminths and ectoparasites in wild birds and how that prevalence is influenced by the provenance region of the birds, their order, age, phenology and social behaviors. Between September and December of 2013 samples of blood, helminths and chewing louse were collected from 11 orders birds (Accipitriformes, Anseriformes, Bucerotiformes, Caprimulgiformes, Charadriiformes, Gruiformes, Passeriformes, Pelecaniformes, Phoenicopteriformes, Strigiformes and Suliformes) admitted at the Centre for Ecology, Vigilance and Rehabilitation of Wildlife (CERVAS), at the Wildlife Rehabilitation and Investigation Centre (RIAS), and captured during two scientific ringing sessions at the Ria Formosa Natural Park (PNRF). These samples were properly conserved, processed and analyzed using microscopic techniques.

The total prevalence of infection for at least one hemaprotezoa was of 33,59% (43/128) and four genus were identified: *Haemoproteus*, *Leucocytozoon*, *Plasmodium* and *Trypanosoma*. The total prevalence of infestations by chewing lice was of 21,31% (26/122) and 18 species were identified. The total prevalence of infection by helminths was of 54,55% (12/22) wherein 9 nematodes genus and 3 cestodes genus were identified. Statistically significant associations were identified between the prevalence of hemoparasites and the order, age, and birds provenance region as well as between the prevalence of chewing lice and the birds social behavior.

Although most of the parasite-host associations identified in this study are already described in the literature, it was identified for the first time worldwide, to what we know, the beetle from Ptiliini tribe in a Eurasian Griffon (*Gyps fulvus*) and one nematode of the genus *Porrocaecum* in a Bonelli Eagle (*Aquila fasciata*). From what is known it is the first identification in Portugal of the mite *Alloptes calidridis*, well as all of the chewing lice species (*Actornithophilus piceus lari*, *Actornithophilus umbrinus*, *Austromenopon lutescens*, *Colpocephalum heterossoma*, *Colpocephalum turbinatum*, *Craspedorrhynchus platystomus*, *Degeeriella fulva*, *Eidmanniella pustulosa*, *Falcolipeurus quadripustulatus*, *Laemobothrion maximum*, *Laemobothrion vulturis*, *Lunaceps schismatus*, *Nosopon casteli*, *Pectinopygus bassani*, *Pseudomenopon*

*pilosum*, *Strigiphilus* sp., *Trinoton querquedulae* and *Trinoton femoratum*) and the helminths (*Contracaecum* sp., *Porrocaecum* sp., *Synhimantus (Dispharynx) nasuta*, *Synhimantus (S.) laticeps*, *Desportesius invaginatus*, *Cosmocephalus obvelatus*, *Neyraia* sp., and *Diplophallus* sp.), except for the genus *Tetrabothrius*, that has been already identified in another host. These results contribute undeniably to a broad overview of the infections by hemosporidia and helminths, as well as of infestations by chewing lice, in wild birds in Portugal.

**Key-words:** Wild birds, Hemoparasites, Helminths and Chewing lice

## **1. Introdução**

### **1.1. As Aves, a sua distribuição e ecologia**

Com aproximadamente 150 milhões de anos de evolução, durante os quais proliferaram, adaptaram-se e especializaram-se a diversas formas de vida, as aves, com mais de 10.000 espécies conhecidas, constituem a Classe de vertebrados, à excepção dos peixes, com maior distribuição mundial, estando presentes nos mais variados habitats, desde os ambientes áridos dos desertos e savanas, aos ambientes húmidos das florestas tropicais, às temperaturas amenas de tundras e cadeias montanhosas, aos ambientes aquáticos de oceanos e rios, entre outros (Hickman *et al.*, 2006; Newton, 2008)

Para além de se tornarem evolutivamente bem adaptadas aos mais variados habitats, as aves apresentam determinadas características morfológicas, que lhes garantem uniformização estrutural e as tornam distintas dos outros grupos de vertebrados, sendo o corpo coberto de penas, a característica mais notória. As penas apresentam diferentes funções, consoante o tipo e localização corporal, destacando-se as penas de voo (rémiges e rectrizes), que tal como o próprio nome indica, desempenham funções vitais na capacidade de voo das aves, característica evolutiva do Período Jurássico da Era Mesozóica (Hickman *et al.*, 2006; Pough *et al.*, 2012).

Para responderem às rigorosas exigências do voo, à grande mobilidade intrínseca, à necessária estabilidade aerodinâmica e aos dois requisitos fundamentais do voo, mais potência e menos peso, as aves desenvolveram as seguintes características morfológicas fundamentais: i) membros anteriores modificados em asas, essenciais na propulsão e no planar (excepto no caso das aves não voadoras); ii) esqueleto composto por ossos ocos pneumáticos, tornando-os leves mas estruturalmente fortes; iii) sistema respiratório altamente eficiente, satisfazendo as suas necessidades metabólicas e endotérmicas durante o voo; iv) sistema circulatório de alta pressão composto por um coração grande, satisfazendo as necessidades metabólicas ao nível muscular durante o voo; v) sistema neuromuscular bem coordenado; vi) sistemas sensoriais especializados, com visão, audição e olfacto apurados, havendo no entanto variações entre espécies (Hickman *et al.*, 2006; Pough *et al.*, 2012).

A capacidade de voo é sem dúvida a grande vantagem adaptativa da maioria das espécies pertencentes a esta Classe, relativamente a outros animais, pois permite-lhes realizar movimentos de dispersão e mais habitualmente movimentos migratórios

sazonais de curtas ou longas distâncias. Nesse sentido, o elevado gasto energético despendido durante a migração é igualmente compensado pelas vantagens resultantes da mudança de habitat, tais como: melhores condições climáticas, maior disponibilidade de espaço, melhores condições para nidificação, maior disponibilidade de alimento, tanto para as aves adultas como para as suas crias (caso existam), evitar eventuais predadores e reduzir o número de competidores interespecíficos (Hickman *et al.*, 2006; Newton, 2008).

Apesar de só cerca de 20% das aves, o equivalente a cerca de 2000 espécies, efectuarem migrações, a grande maioria das aves que ocorrem na Europa, realizam por norma, duas grandes migrações semestrais, desencadeadas pelo ciclo das estações do ano, ou seja: durante o Inverno efectuam uma migração de Norte para Sul e durante a Primavera, movimentam-se no sentido oposto, permitindo-lhes assim deslocarem-se respectivamente, para o local de invernada e para o local de nidificação. Contudo, pequenas alterações na disponibilidade de alimento e alterações climáticas, relacionada directa ou indirectamente com variações nas estações do ano, poderão ser responsáveis por alterações no *timing* da migração, desregulando deste modo as datas de início e chegada da migração, que por norma são bem precisas (Newton, 2008; BirdLife International, 2014a).

As rotas adoptadas para a realização da migração, são muito diversificadas entre espécies e a trajectória tomada, entre o local de invernada e de nidificação, nem sempre é a mais directa, mesmo que isso implique maior tempo de viagem, uma vez que o desvio efectuado por algumas espécies permite-lhes beneficiar da disponibilidade de habitat contínuo, onde é possível alimentarem-se, ficarem menos expostas a condições meteorológicas adversas e a predadores. Nesse sentido, as aves migratórias poderão concentrar-se em altas densidades, em determinados pontos das suas rotas migratórias, facto facilmente comprovado em Portugal, que dada a sua localização geográfica, o seu habitat e as condições climáticas, torna-se um perfeito local de passagem para inúmeras aves migratórias (Ogilvie, 2007; Newton, 2008).

A migração, mesmo sendo um processo altamente automatizado, em que as aves migratórias obtêm uma maior taxa de sobrevivência e um elevado sucesso reprodutor, do que se mantivessem permanentemente no mesmo local, este último fenómeno também ocorre em larga escala. Determinadas aves adoptam um estilo de vida mais sedentário, usufruindo das condições de habitat, de clima e de alimentação de um dado

local, onde acabam por nidificar e permanecer durante todo o ano, sem efectuarem movimentos migratórios, tornando-se assim aves residentes (Newton, 2008).






Juntamente com estas características, as aves apresentam adaptações morfológicas fundamentais à execução de funções básicas do dia-a-dia, tais como (serão mencionados exemplos das adaptações em algumas das aves amostradas):

- i) Patas posteriores adaptadas a diferentes habitats e necessárias para diferentes formas de locomoção e/ou predação. Por exemplo, o Ganso-patola (*Morus bassanus*), ave com hábitos exclusivamente aquáticos, apresenta os membros posteriores providos de membranas interdigitais, especializados para a natação à superfície, enquanto o Gavião (*Accipiter nisus*), como grande parte das aves de rapina, apresenta patas com quatro garras fortes, especializadas para predação (Ferguson-Lees & Christie, 2001; Pough *et al.*, 2012).
- ii) Plumagem adaptada a diferentes habitats. Por exemplo, o Galeirão-comum (*Fulica atra*), ave com hábitos aquáticos, apresenta uma plumagem densa e penas estruturalmente modificadas, que para além de lhes garantirem flutuabilidade, retardam a penetração da água até à pele, funcionando deste modo como isolante térmico (Pough *et al.*, 2012).
- iii) Adaptação morfológica dos bicos, associada a diferentes hábitos alimentares. Por exemplo o Noitibó-cinzento (*Caprimulgus europaeus*), possui um bico curto e frágil, mas com uma ampla cavidade oral, que lhe permite maximizar a captura alimento em voo, enquanto a Águia-calçada (*Aquila pennata*), assim como a maioria das rapinas, tem um bico forte e pontiagudo, especializado para dilacerar as presas (Ferguson-Lees & Christie, 2001; König & Weick, 2009; Pough *et al.*, 2012).
- iv) Especialização do sistema digestivo, satisfazendo as exigências da digestão de diferentes tipos de alimentos. Por exemplo, a Coruja-das-torres (*Tyto alba*), assim como outras corujas, expele pelo bico, egagrópilas, formadas no proventrículo (estômago glandular das aves) e resultantes da acumulação de material não digerível, como ossos, penas e pêlos (Hickman *et al.*, 2006; Pough *et al.*, 2012).

As características adaptativas das aves, para além de lhes garantirem as condições óptimas à realização de voos, de curtas e/ou longas distâncias, são responsáveis por muitos dos aspectos distintos do seu comportamento e ecologia, que podem ou não, estar directamente relacionados com essa capacidade. Todos estes aspectos, juntamente com a aplicação, mais recente, de técnicas de biologia molecular, tornaram-se extremamente importantes para a correcta classificação taxonómica, das 10.695 espécies de aves identificadas até à data, que se encontram distribuídas por 40 ordens e 239 famílias. Contudo algumas destas ordens e famílias correspondem a aves já extintas (Hickman *et al.*, 2006; Gill & Donsker, 2014).






Alguns detalhes da ecologia (habitat, hábitos alimentares, conduta social e fenologia) das espécies de aves incluídas neste estudo, relevantes para explicar a possível exposição, a vectores responsáveis pela transmissão de hemoparasitas, a formas infectantes/infestantes de helmintes e de ectoparasitas, foram incluídos neste trabalho e encontram-se resumidos na Tabela 1.

**Tabela 1 – Aspectos da ecologia das espécies de aves estudadas relevantes para explicar a possível exposição a parasitas** (Ferguson-Lees & Christie, 2001; König & Weick, 2009; Catry *et al.*, 2010; Svensson *et al.*, 2012).

Espécie (nome comum)	Habitat	Hábitos alimentares	Conduta Social	Fenologia e Abundância	Imagem
<i>Accipiter nisus</i> (Gavião)	Habita preferencialmente paisagens mistas, com alternância de densa cobertura florestal (bosques) e áreas abertas; pode ainda ocupar zonas agrícolas, matos e pousios. Distribui-se sobretudo no Norte do país, tendo uma distribuição fragmentada no restante território.	Alimentação baseada quase exclusivamente em pequenas aves, podendo no entanto alimentar-se de micromamíferos.	Ave geralmente solitária, migrando isoladamente embora se possam formar grandes concentrações em locais de passagem. Nidifica em casais reprodutores isolados. (S)	Residente e migrador de passagem comum e invernante pouco comum a comum. (MLD)	 © Ricardo Brandão
<i>Aegypius monachus</i> (Abutre-preto)	Distribui-se pelo Interior do país, desde a Beira Alta até ao Baixo Alentejo, ocupando terrenos abertos de montado, zonas de colina, pastagens, matos e pinhais.	Ave quase exclusivamente necrófaga, alimenta-se de carcaças de animais de médio e grande porte. No entanto, cobras e insectos podem fazer parte dos hábitos alimentares. Nos raros casos de predação opta por indivíduos lentos, pequenos ou doentes.	A nidificação ocorre de forma solitária, em casais, ou maioritariamente em colónias esparsas ou núcleos. Embora aja isoladamente, algumas vezes forma pequenos grupos, e mais raramente bandos, nos locais de alimentação e pernoita, por vezes na companhia de Grifos. (G)	Residente raro. (R)	 © Armando Caldas
<i>Aquila fasciata</i> (Águia-de-Bonelli)	Distribui-se por todo o país, preferindo habitats áridos e semi-húmidos, terrenos acidentados com cobertura vegetal e zonas montanhosas. É bastante frequente junto dos vales dos grandes rios e seus afluentes, e das zonas de serra, na região Sul.	Dieta baseada em aves de pequeno e médio porte, salientando o Pombo-comum e a Perdiz-comum, e ocasionalmente pode alimentar-se de répteis e pequenos mamíferos.	Ave normalmente solitária, pode no entanto ser observada em pares. (S)	Residente pouco comum. (R)	 © Thijs Valkenburg
<i>Aquila pennata</i> (Águia-calçada)	Nas regiões do Alentejo e Ribatejo ocorre em habitats florestais, com preferência por extensas manchas de sobre e azinho, intercaladas com manchas de pinhal e áreas abertas. Nas regiões a Norte, ocorre junto a áreas de montanha, com pequenos bosquetes e cursos de água.	Dieta constituída sobretudo por aves de pequeno e médio porte, répteis e pequenos mamíferos.	Ave normalmente solitária ou em pares, com excepção da migração, onde podem ser observados em pequenos grupos. Tendencialmente mantém-se afastada de outras aves de rapina. (S)	Estival e migrador de passagem comum e invernante raro. (MLD)	 © Thijs Valkenburg
<i>Buteo buteo</i> (Águia-d'asa-redonda)	Distribui-se por todo o país, ocupando habitats de planície e montanha. Ocorre sobretudo, em zonas florestais intercaladas com zonas abertas, zonas agrícolas, pinhais e carvalhais. Surge ainda em terrenos completamente abertos, como planícies cerealíferas	Dieta bastante variada, baseada sobretudo em pequenos mamíferos, nomeadamente rato-do-campo e coelho-bravo, contudo aves, répteis, anfíbios e insectos poderão fazer parte desta.	Ave tendencialmente solitária ou em pares, alimenta-se quase sempre sozinha. Ocasionalmente podem formar pequenos grupos familiares em abrigos e durante a migração. (S)	Residente, invernante e migrador de passagem comum. (R&M)	 © Thijs Valkenburg

Legenda: Conduta Social (S – Ave solitária; G – Ave gregária); Fenologia e abundância (R – Residente; MLD – Migrador de Longa distância; MCD – Migrador de Curta distância; R&M – Residente e Migrador)





**Tabela 1 (continuação) – Aspectos da ecologia das espécies de aves estudadas relevantes para explicar a possível exposição a parasitas.**

Espécie (nome comum)	Habitat	Hábitos alimentares	Conduta Social	Fenologia e Abundância	Imagem
<i>Elanus caeruleus</i> (Peneireiro-cinzento)	Distribui-se pelo Centro e Sul do país, utilizando preferencialmente montados de sobre ou azinho, abertos ou associados a culturas arvenses. Frequenta ainda planaltos com arvoredos dispersos, zonas cerealíferas, lezírias, arrozais pousios e pastagens.	Dieta constituída por pequenos mamíferos, répteis, aves e insectos.	Ave tendencialmente solitária, pode no entanto agrupar-se em concentrações substanciais em áreas de alimentação e dormida. A nidificação pode ser igualmente efectuada por vários casais no mesmo local. (S)	Residente pouco comum a comum. (R)	 © Thijs Valkenburg
<i>Gyps fulvus</i> (Grifo)	Ave rupícola, habita em encostas íngremes ou outros afloramentos rochosos. Pode também ocorrer em terrenos agrícolas e estepes (locais de alimentação). A nível nacional distribui-se sobretudo nas regiões fronteiriças, sendo possível observar noutros locais durante a migração.	Ave exclusivamente necrófaga, alimenta-se de tecidos moles de cadáveres de mamíferos silvestres e domésticos.	Ave solitária, contudo adopta uma postura gregária, nos locais de alimentação e de pernoita. Nidifica em colónias e migra individualmente ou em bandos que poderão atingir largas centenas de indivíduos. (G)	Residente e migrador de passagem comum. (MLD)	 © Armando Caldas
<i>Anas crecca</i> (Marrequinha-comum)	Ocupa uma grande variedade de habitats aquáticos, de preferência rasos e com densa vegetação nas margens. Em Portugal ocorre sobretudo em estuários, lagoas costeiras e pauis das regiões do Litoral e em barragens e açudes no Interior.	Dieta considerada omnívora, baseada em moluscos, insectos e crustáceos, durante a Primavera e Verão, e em sementes de plantas aquáticas, durante o Inverno.	Ave gregária, agrupa-se em grandes bandos durante a migração. Durante a nidificação forma casais monogâmicos e mesmo não sendo uma espécie colonial, os locais de nidificação poderão ser muito próximos. (S)	Invernante comum e residente ocasional. (MLD)	 © Bruno H. Martins
<i>Upupa epops</i> (Poupa)	Distribui-se por todo o território nacional, mas é mais abundante nas zonas áridas do Sul e Centro, frequentando biótopos muito variados, como bosques, pousios, pastagens, campos agrícolas, montados e terrenos suburbanos.	Alimenta-se de insectos de grandes dimensões presentes no solo e das suas larvas e pupas.	Ave geralmente solitária, ou em pares na altura da nidificação. Durante a migração, pode agrupar-se em pequenos bandos. (S)	Estival, residente e migrador de passagem comum. (R)	 © Thijs Valkenburg
<i>Caprimulgus europaeus</i> (Noitibó-cinzento)	Ocorre em habitats mistos de bosque e locais abertos, com zonas de solo seco e arenoso e muitas vezes na proximidade de zonas húmidas; frequenta também áreas de matos e florestas de resinosas.	Dieta insectívora, baseada em lepidópteros, coleópteros, ortópteros e dípteros, com preferência por indivíduos de grandes dimensões.	Ave geralmente solitária, com excepção do período de nidificação onde é observada em pares, e durante a alimentação, onde pode ocorrer junto de indivíduos da mesma espécie ou de Noitibó-de-nuca-vermelha. (S)	Estival comum e migrador de passagem pouco comum. (MLD)	 © Thijs Valkenburg

Legenda: Conduta social durante (S – Ave solitária; G – Ave gregária); Fenologia e abundância (R – Residente; MLD – Migrador de Longa distância; MCD – Migrador de Curta distância; R&M – Residente e Migrador)








**Tabela 1 (continuação) – Aspectos da ecologia das espécies de aves estudadas relevantes para explicar a possível exposição a parasitas.**

Espécie (nome comum)	Habitat	Hábitos alimentares	Conduta Social	Fenologia e Abundância	Imagem
<i>Burhinus oedicnemus</i> (Alcaravão)	Ocorre em grande número a Sul do Rio Tejo, em zonas abertas, amplas e secas, com poucas ou nenhuma zonas arborizadas, preferindo pousios, terrenos incultos e dunas. Habita também em alqueives, montados abertos, salinas e sapais.	Alimenta-se preferencialmente de invertebrados terrestres e ocasionalmente ingere pequenos vertebrados.	Ave solitária ou em pares durante a Primavera. Durante a alimentação e migração de Inverno adota hábitos gregários, reunindo-se em bandos que poderão ser compostos por centenas de indivíduos. (S)	Residente e invernante pouco comum. (R)	 © Bruno H. Martins
<i>Pluvialis squatarola</i> (Tarambola-cinzenta)	Ocorre ao longo do Litoral, concentrando-se nas grandes zonas estuarinas ou lagunares costeiras, podendo ainda ser observado nas orlas de, arrozais, pastagens alagadas, sapais e salinas. No Interior, habita as margens de albufeiras e arrozais.	Alimenta-se sobretudo de poliquetas, moluscos e crustáceos marinhos, podendo no entanto alimentar-se de insectos e oligoquetas, aquando da passagem por habitats terrestres.	Ave solitária ou gregária, alimenta-se isoladamente ou em pequenos bandos, nidifica em pares solitários bem dispersos e forma grandes bandos de até, milhares de indivíduos, durante a migração. (S)	Invernante e migrador de passagem localmente comum. (MLD)	 © Thijs Valkenburg
<i>Chroicocephalus ridibundus</i> (Guincho-comum)	Ocorre ao longo da faixa Litoral, com preferência por estuários, lagoas, zonas entremarés, salinas, aquaculturas, praias, foz de rios e zonas portuárias. No Outono e Inverno, é comum no Interior do país, visitando barragens, açudes, pauis e terrenos agrícolas. Ocorre ainda em ambientes urbanos.	Dieta baseada em invertebrados, marinhos (moluscos, insectos, oligoquetas e crustáceos) e terrestres (insectos); raramente alimenta-se de pequenos peixes. Como oportunista, alimenta-se de resíduos e restos orgânicos de aterros sanitários e saídas de esgotos.	Durante a época de reprodução forma colónias de grandes dimensões, muitas vezes com outras espécies de gaivotas e gaivinas. Fora desta época, apresenta igualmente hábitos gregários, ocorrendo em grandes bandos. (G)	Invernante e migrador de passagem muito comum e residente raro. (MCD)	 © Thijs Valkenburg
<i>Larus fuscus</i> (Gaivota-d'asa-escura)	Distribuição relativamente ubíqua, estando presente ao longo da costa Litoral de Portugal, no mar, praias, lagoas, estuários e rias. No Interior ocorre em barragens, açudes, arrozais, pauis e ao longo de cursos de água. Ocorre ainda em ambientes urbanos.	Dieta omnívora, baseada em peixe, crustáceos, moluscos e alguns insectos. Como oportunista, alimenta-se de ovos e crias de outras aves, de peixe rejeitado pelas embarcações de pesca e de restos orgânicos de aterros sanitários e saídas de esgotos.	Durante a época de reprodução forma colónias de tamanho variável, podendo mesmo nidificar com outras espécies de gaivotas. Fora desta época ocorre de forma solitária ou em bandos de dimensão variável. (G)	Invernante e migrador de passagem muito comum e Residente raro. (MLD)	 © Thijs Valkenburg
<i>Larus michahellis</i> (Gaivota-de-patas-amarelas)	Distribuição relativamente ubíqua, estando presente ao longo da costa Litoral de Portugal, no mar, praias, lagoas, estuários e rias. No Interior ocorre em barragens, açudes, arrozais pauis e ao longo de cursos de água. Ocorre ainda em ambientes urbanos.	Dieta omnívora, baseada em peixe, crustáceos, moluscos e alguns insectos. Como oportunista, alimenta-se de ovos e crias de outras aves, de peixe rejeitado pelas embarcações de pesca e de restos orgânicos de aterros sanitários e saídas de esgotos.	Durante a época de reprodução forma colónias de grandes dimensões, podendo mesmo nidificar com outras espécies de gaivotas. Fora esta época, apresenta igualmente hábitos gregários. (G)	Residente muito comum. (R)	 © Thijs Valkenburg






Legenda: Conduta Social (S – Ave solitária; G – Ave gregária); Fenologia e abundância (R – Residente; MLD – Migrador de Longa distância; MCD – Migrador de Curta distância; R&M – Residente e Migrador)

**Tabela 1 (continuação) – Aspectos da ecologia das espécies de aves estudadas relevantes para explicar a possível exposição a parasitas.**

Espécie (nome comum)	Habitat	Hábitos alimentares	Conduta Social	Fenologia e Abundância	Imagem
<i>Himantopus himantopus</i> (Pernilongo)	Ocupa as grandes zonas húmidas costeiras, com águas pouco profundas, doces ou salobras, de substrato arenoso, argiloso ou lodoso, como, salinas, pisciculturas, lagoas costeiras, terrenos alagados, arrozais, pauis, charcos, açudes e estações de tratamento de águas residuais.	Dieta constituída quase exclusivamente por invertebrados aquáticos, sobretudo insectos, podendo no entanto consumir: moluscos, crustáceos, poliquetas, oligoquetas, pequenos peixes, girinos e sementes de plantas aquáticas.	Espécie essencialmente gregária, reúne-se em bandos que podem chegar a milhares de indivíduos, durante a migração e nos dormitórios. A nidificação ocorre em pares isolados ou em colónias, constituídas até por outras espécies da família Charadriidae. (G)	Residente, invernante, estival e migrador de passagem pouco comum a comum. (R)	 © Thijs Valkenburg
<i>Calidris alpina</i> (Pilrito-comum)	Ocorre nos grandes complexos lagunares costeiros ou estuarinos do Litoral do país. No Interior do país é comum em pequenos estuários, lagoas, arrozais e barragens.	Espécie omnívora, alimenta-se sobretudo de dípteros, bivalves, gastrópodes, crustáceos, poliquetas, pequenos peixes e matéria vegetal.	Ave geralmente gregária, nidifica em colónias, dispersas ou soltas; nas áreas de alimentação e nos movimentos migratórios, agrupa-se em grandes bandos. (G)	Invernante e migrador de passagem localmente comum. (MLD)	 © Thijs Valkenburg
<i>Charadrius hiaticula</i> (Borrelho-grande-de-coleira)	Ocorre nas grandes zonas húmidas da faixa costeira, estuários e rias. Ocorre ainda em praias rochosas, arrozais, lagoas lamacentas de barragens ou açudes e salinas.	Alimentação baseada em invertebrados marinhos, principalmente pequenos crustáceos, moluscos e poliquetas.	Ave solitária ou gregária, forma grandes bandos junto das áreas de alimentação e fora da época de nidificação. Nidifica em pares solitários ou em grupos semi-coloniais. (G)	Invernante e migrador de passagem localmente comum. (MLD)	 © Thijs Valkenburg
<i>Scolopax rusticola</i> (Galinholha)	Habita todo o tipo de formações florestais, pastagens e prados permanentes, com especial apetência para os terrenos que apresentem uma manta morta espessa e húmida, locais onde o bico penetra facilmente.	Dieta constituída essencialmente por oligoquetas e insectos. Pode ainda alimentar-se de material vegetal, pequenos bivalves, crustáceos e moluscos de água doce.	Ave geralmente solitária, excepto durante a migração, em que se agrupa em pequenos grupos de 5-6 indivíduos, principalmente na migração terrestre em que o alimento e abrigo são restritos. (S)	Invernante pouco comum a comum. (MLD)	 © Thijs Valkenburg
<i>Fulica atra</i> (Galeirão-comum)	Habita preferencialmente em zonas húmidas de média e grande dimensão, ricas em vegetação subaquática, pouco profundas e com vegetação nas orlas. Ocorre em lagoas costeiras, pauis, açudes, barragens, aquaculturas e lagos ornamentais e urbanos.	Dieta omnívora, baseada em matéria vegetal, desde algas, plantas aquáticas, terrestres e respectivas sementes. Pode ainda alimentar-se de moluscos, anfíbios, crustáceos, nomeadamente lagostim-vermelho, larvas e insectos adultos.	Espécie tendencialmente gregária, forma bandos de até milhares de indivíduos durante a época de muda e migração. Nidifica em pares solitários dispersos e alimenta-se e pernoita solitariamente ou em bandos. (G)	Residente e invernante pouco comum a comum. (R)	 © Thijs Valkenburg






Legenda: Conduta Social (S – Ave solitária; G – Ave gregária); Fenologia e abundância (R – Residente; MLD – Migrador de Longa distância; MCD – Migrador de Curta distância; R&M – Residente e Migrador)

**Tabela 1 (continuação) – Aspectos da ecologia das espécies de aves estudadas relevantes para explicar a possível exposição a parasitas.**

<b>Espécie (nome comum)</b>	<b>Habitat</b>	<b>Hábitos alimentares</b>	<b>Conduta Social</b>	<b>Fenologia e Abundância</b>	<b>Imagem</b>
<i>Certhia brachydactyla</i> (Trepadeira-comum)	Localmente abundante, está distribuída por todo o país, ocupando todo o tipo de habitats arborizados, sobretudo árvores velhas, resinosas e folhosas, incluindo pinhais, montados, carvalhais, matas ripícolas e até jardins de zonas urbanas.	Alimenta-se exclusivamente de invertebrados, sobretudo de larvas ou pupas de insectos.	Ave geralmente solitária, podendo no entanto agrupar-se em bandos nos abrigos de Inverno. (S)	Residente comum. (R)	 © Armando Caldas
<i>Corvus corone</i> (Gralha-preta)	Distribui-se por todo o território nacional, ocupando quase todo o tipo de habitats, como zonas desarborizadas, montados, pastagens, exceptuando zonas urbanizadas.	Alimenta-se sobretudo de e grãos de cereais. Ovos invertebrados e crias de outras aves, carne em decomposição, pequenos vertebrados e desperdícios humanos, também fazem parte da sua dieta.	Ave geralmente solitária, podendo no entanto adoptar uma condição gregária, agrupando-se em bandos, nos abrigos de Inverno e junto de fontes de alimento. (S)	Residente comum. (R)	 © Thijs Valkenburg
<i>Cyanopica cyanus</i> (Pega-azul)	Distribuiu-se por todo o país, embora mais reduzida a Norte do Tejo, ocorrendo em zonas de baixa e média altitude e frequentando áreas de bosques, montados de sobre, olivais, pinhais, pomares, carvalhais e matagais.	Dieta considerada omnívora, alimenta-se de insectos e outros invertebrados, frutos, sementes e menos frequentemente, de desperdícios humanos.	Ave geralmente gregária, junta-se em bandos nos movimentos de deslocação, dormitórios, zonas de alimentação e formando colónias durante a época de nidificação. (G)	Residente comum. (R)	 © Thijs Valkenburg
<i>Phylloscopus collybita</i> (Felosa-comum)	Distribui-se por todo o país durante o Inverno, ocupando uma grande variedade de habitats, desde zonas densamente arborizadas, a montados, pinhais, zonas ripícolas e zonas urbanas. Nidifica localmente, em pinhais, montados de sobre e bosquetes de carvalho.	Alimentação dominada por insectos e pequenas aranhas, podendo também consumir néctar, nomeadamente de aloé e eucalipto.	Ave geralmente solitária ou em pares. (S)	Invernante muito comum e residente rara. (MLD)	 © Thijs Valkenburg
<i>Sylvia atricapilla</i> (Toutinegra-de-barrete-preto)	Distribui-se por todo o país, ocupando quase todo o tipo de zonas florestais e arborizadas, desde bosques sombrios com vegetação densa, a pomares, matagais mediterrânicos, eucaliptais e jardins com arbustos.	Dieta essencialmente insectívora na Primavera. No Outono e Inverno poderá incluir bagas, frutos e néctar de eucalipto.	Ave geralmente solitária ou em pares. (S)	Residente, migradora de passagem e invernante comum. (R&M)	 © Thijs Valkenburg

Legenda: Conduta Social (S – Ave solitária; G – Ave gregária); Fenologia e abundância (R – Residente; MLD – Migrador de Longa distância; MCD – Migrador de Curta distância; R&M – Residente e Migrador)





**Tabela 1 (continuação) – Aspectos da ecologia das espécies de aves estudadas relevantes para explicar a possível exposição a parasitas.**

Espécie (nome comum)	Habitat	Hábitos alimentares	Conduta Social	Fenologia e Abundância	Imagem
<i>Sylvia borin</i> (Felosa-das-figueiras)	Presente em todo o país durante a migração, frequenta qualquer habitat com árvores, como: bosques, sebes, montados e jardins. Já durante a nidificação é restrita ao extremo Norte do país, ocorrendo apenas em bosques mistos e ribeirinhos.	Dieta essencialmente insectívora na Primavera, enquanto no Outono e Inverno também se alimenta de bagas e frutos, nomeadamente figos.	Ave geralmente solitária ou em pares. (S)	Estival migradora rara, de passagem muito comum. (MLD)	 © Armando Caldas
<i>Sylvia melanocephala</i> (Toutinegra-de-cabeça-preta)	Distribui-se por todo o país, excepto nas terras altas, onde é rara. Ocupa matos, sebes, matas ripícolas, sapais, bosques, matagais mediterrâneos, montados e olivais abandonados e zonas junto a cursos de água.	Dieta fundamentalmente insectívora na Primavera, passando a integrar bagas e frutos no Outono e Inverno.	Ave geralmente solitária ou em pares. (S)	Residente, migradora de passagem e invernante muito comum. (R)	 © Thijs Valkenburg
<i>Erithacus rubecula</i> (Pisco-de-peito-ruivo)	Abundante em todo o país, frequenta uma enorme variedade de habitats, com cobertura arbórea ou arbustiva, como florestas, matas, montados, pinhais e matagais. Ocupa ainda jardins, pomares e vinhas de zonas urbanas.	Dieta constituída por frutos carnudos, bagas, pedaços de bolotas e pequenos invertebrados, no Inverno, e quase exclusivamente em insectos, na Primavera e Verão.	Ave territorial e geralmente solitária, excepto na época de nidificação agrupando-se em casais reprodutores. (S)	Residente, invernante migrador e de passagem muito comum. (MCD)	 © Thijs Valkenburg
<i>Phoenicurus ochruros</i> (Rabiruiro-preto)	Habita zonas rupícolas e povoações, no Norte e Centro do país, enquanto no Sul, ocorre em arribas costeiras e escarpas. No Inverno, para além desses locais, ocorre em montados pouco densos, olivais, vinhas e campos agrícolas.	Dieta dominada por pequenos invertebrados capturados sobretudo no chão. Por vezes também se alimenta de frutos e bagas.	Ave geralmente solitária. (S)	Residente, invernante migrador e de passagem comum. (R)	 © Thijs Valkenburg
<i>Turdus merula</i> (Melro-preto)	Distribui-se por todo o país, ocupando uma variedade de habitats, desde bosques, florestas, matos densos, galerias ripícolas, zonas de pastagens com sebes e zonas verdes de grandes centros urbanos.	Dieta constituída maioritariamente por insectos e oligoquetas, podendo também alimentar-se de frutos e bagas, no Outono e Inverno.	Ave geralmente solitária. As aves migratórias, poderão adoptar uma postura mais sociável, migrando e alimentando-se, nos locais de invernada, em pequenos bandos. (S)	Residente muito comum e invernante pouco comum. (R)	 © Thijs Valkenburg

Legenda: Conduta Social (S – Ave solitária; G – Ave gregária); Fenologia e abundância (R – Residente; MLD – Migrador de Longa distância; MCD – Migrador de Curta distância; R&M – Residente e Migrador)


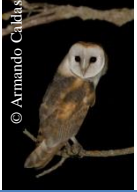
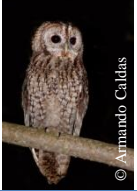



**Tabela 1 (continuação) – Aspectos da ecologia das espécies de aves estudadas relevantes para explicar a possível exposição a parasitas.**

Espécie (nome comum)	Habitat	Hábitos alimentares	Conduta Social	Fenologia e Abundância	Imagem
<i>Turdus philomelos</i> (Tordo-pinto)	Distribui-se por todo o território, ocupando bosques mistos, sebes, matas ribeirinhas, pomares, terrenos agrícolas, pousios, pastagens com árvores e parques arborizados.	Alimenta-se preferencialmente de azeitonas e outros frutos, que quando indisponíveis são substituídos por invertebrados, com preferência por minhocas e caracóis.	Ave normalmente solitária, podendo no entanto adquirir uma postura gregária durante o Inverno, nos locais de alimentação e pernoita. (S)	Residente raro a pouco comum e invernante comum a muito comum. (MCD)	
<i>Ardea cinérea</i> (Garça-real)	Espécie generalista associada a todo o tipo de zonas húmidas. Ocorre em praticamente todo o país, com maior abundância nas grandes zonas húmidas do Litoral, como, grandes estuários e lagoas costeiras, pauis, salinas, aquaculturas, arrozais, entre outros.	Alimenta-se sobretudo de peixes, anfíbios, pequenos mamíferos, insectos e répteis. Ocasionalmente consome crustáceos, moluscos e pequenas aves.	Ave com conduta exclusivamente gregária durante a migração, formando bandos de diferentes dimensões. A nidificação ocorre em colónias de milhares de casais, ou por vezes solitariamente. Durante a alimentação normalmente adopta uma postura solitária. (G)	Residente pouco comum, migradora de passagem e invernante comum. (MCD)	
<i>Bubulcus ibis</i> (Garça-boieira)	Distribui-se por todo o país, ocupando preferencialmente pastagens, secas ou semialagadas, terrenos agrícolas com culturas de sequeiro, arrozais, montados, salinas, açudes, terrenos incultos e relvados de zonas urbanas.	Alimenta-se preferencialmente de gafanhotos, mas ocasionalmente alimenta-se de micromamíferos, crustáceos, moluscos, anfíbios, répteis e pequenas aves. Mantém ainda hábitos alimentares por associação a gado e/ou máquinas agrícolas.	Ave com conduta maioritariamente gregária, forma colónias de milhares de casais, durante a nidificação, e forma bandos de diferentes dimensões, durante a migração, alimentação e nos dormitórios. (G)	Residente comum. (R)	
<i>Phoenicopterus roseus</i> (Flamingo)	Ocorre em áreas com elevada disponibilidade de águas pouco profundas ou lamas entremarés, como zonas estuarinas ou lagunares costeiras, tanques de salinas, aquaculturas e pisciculturas. Distribui-se sobretudo ao longo da faixa Litoral.	Alimenta-se sobretudo de pequenos invertebrados, nomeadamente, crustáceos, insectos e anelídeos.	Ave gregária, desloca-se e alimenta-se em bandos, que poderão atingir as centenas de indivíduos, e nidifica em colónias. (G)	Invernante comum e Residente raro. (MCD)	
<i>Athene noctua</i> (Mocho-galego)	Distribui-se por todo o território nacional, com maior incidência na metade Sul do país, ocupando uma grande diversidade de habitats, como olivais, montados, terrenos agrícolas e baldios, bosques fechados, estepes cerealíferas e ruínas de edifícios.	Alimenta-se sobretudo de pequenos mamíferos e insectos, e menos frequentemente de pequenas aves, anfíbios e cobras	Ave territorial, ocorre isoladamente até encontrar parceiro, formando casais reprodutores monogâmicos, que se mantêm para o resto da vida. (S)	Residente comum. (R)	

Legenda: Conduta Social (S – Ave solitária; G – Ave gregária); Fenologia e abundância (R – Residente; MLD – Migrador de Longa distância; MCD – Migrador de Curta distância; R&M – Residente e Migrador)

**Tabela 1 (continuação) – Aspectos da ecologia das espécies de aves estudadas relevantes para explicar a possível exposição a parasitas.**

Espécie (nome comum)	Habitat	Hábitos alimentares	Conduta Social	Fenologia e Abundância	Imagem
<i>Bubo bubo</i> (Bufo-real)	Com distribuição fragmentada de Norte a Sul do país, esta ave ocorre em áreas remotas, com topografia irregular e pouco humanizadas, como vales rochosos, junto, a cursos de água e a zonas arborizadas densas.	Predador generalista, alimenta-se principalmente de Coelho-bravo, mas Lebre, Ouriço-cacheiro, micromamíferos, répteis, aves, artrópodes e peixes, poderão ser incluídos na sua dieta.	Ave bastante territorial, geralmente solitária, excepto na altura da nidificação que se agrupa em casais reprodutores monogâmicos, que se poderão manter para o resto da vida. (S)	Residente pouco comum. (R)	
<i>Tyto alba</i> (Coruja-das-torres)	Presente em todo o país, esta ave ocorre numa grande diversidade de locais, como montados de sobreiro ou azinho, lezírias, estepes cerealíferas, campos agrícolas, terrenos baldios e jardins e ruínas de edifícios.	Alimenta-se sobretudo de pequenos roedores, dos géneros <i>Mus</i> e <i>Microtus</i> , e de mamíferos insectívoros, principalmente de Musaranhos-de-dentes-brancos. Raramente alimenta-se de aves, insectos e anfíbios.	Ave territorial, geralmente solitária ou em pares, nomeadamente casais monogâmicos, que normalmente se mantêm para o resto da vida. (S)	Residente comum. (R)	
<i>Strix aluco</i> (Coruja-do-mato)	Distribuindo-se por todo o país, esta ave, é tipicamente florestal frequentando sobretudo povoamentos de carvalhos, castanheiros, sobreiros e pinheiros. Raramente ocorre em terrenos abertos, parques e jardins urbanos.	Alimenta-se de pequenos mamíferos, principalmente roedores dos géneros <i>Mus</i> e <i>Microtus</i> , e de invertebrados.	Ave territorial e solitária até encontrar parceiro, altura em que se agrupa em casais reprodutores monogâmicos, que se mantêm para o resto da vida. (S)	Residente comum. (R)	
<i>Morus bassanus</i> (Ganso-patola)	Abundante ao longo da costa, esta ave é estritamente marinha, vindo apenas a terra em casos de debilidade. A nidificação é feita em ilhas do Norte da América e da Europa Ocidental.	Dieta constituída sobretudo por peixe de características pelágicas, capturado em mergulho. Pode ser observada junto de embarcações de pesca, alimentando-se do peixe que escapa das redes e/ou é rejeitado.	Ave geralmente gregária, nidifica em grandes colónias de casais monogâmicos para toda a vida. Migra em grandes bandos e alimenta-se, em pequenos grupos ou mesmo individualmente. (G)	Migrador de passagem e invernante muito comum. (MLD)	

Legenda: Conduta Social (S – Ave solitária; G – Ave gregária); Fenologia e abundância (R – Residente; MLD – Migrador de Longa distância; MCD – Migrador de Curta distância; R&M – Residente e Migrador)

## 1.2. Hemoparasitas

Os hemoparasitas das aves foram descritos pela primeira vez em 1885, pelo fisiologista russo e professor da Universidade de Cracóvia, Vasily Danilewsky, no sangue de aves pertencentes às famílias Accipitridae, Laniidae e Corvidae. Desde então foram identificados hemosporídeos em cerca de 68% das mais de 3800 espécies de aves examinadas (Krone *et al.*, 2001; Valkiūnas, 2005). Os hemosporídeos (Classe: Sporozoa, ordem: Haemosporida), com uma distribuição cosmopolita, são parasitas protozoários intracelulares de células sanguíneas e tecidos, transmitidos por dípteros sugadores de sangue (vectores biológicos) e considerados um grupo peculiar e filogeneticamente destacado de hemoparasitas heteroxenos, capazes de parasitar aves, anfíbios, répteis e mamíferos (Valkiūnas, 2005).

Por incluírem o agente etiológico da malária (parasita do género *Plasmodium*), doença bastante comum e mortal em humanos (segundo dados da OMS, no ano de 2012, foram estimados 207 milhões de casos e 627 mil mortes por malária em todo o Mundo), principalmente em países de clima tropical, os hemosporídeos, são um dos grupos de protozoários mais bem estudados e conhecidos (Valkiūnas, 2005; World Health Organization, 2013). Devido à facilidade de obtenção de amostras e à possibilidade de efectuar uma avaliação quantitativa e qualitativa apenas com recurso a esfregaços sanguíneos, os hemosporídeos têm sido frequentemente utilizados para investigar as interacções parasita-hospedeiro (Krone *et al.*, 2001; Dorrestein, 2009). Nesse sentido, desde cedo se percebeu o potencial dos hemosporídeos aviários, tendo desde então um papel crucial como modelos de estudo para a malária em humanos, com investigações sobre o ciclo de vida, cultura *in vitro*, desenvolvimento de quimioterapia e vacinas, entre outros, incentivando assim o desenvolvimento da parasitologia médica (Valkiūnas, 2005; van Rooyen *et al.*, 2013).

Os hemoparasitas mais frequentemente identificados no sangue periférico de aves, compreendem 3 géneros do filo Apicomplexa: *Haemoproteus*, *Leucocytozoon* e *Plasmodium* (Valkiūnas, 2005; Hauptmanová *et al.*, 2006; Clark *et al.*, 2009). Não existindo consenso quanto à família onde estes géneros são inseridos, alguns autores, como Martinsen *et al.* (2008), seguem a classificação feita por Levine em 1988 (Desser & Bennett, 1993), agrupando-os numa única família, a família Plasmodiidae, enquanto Bennett (1993) e Valkiūnas (2005) agrupam os três géneros nas famílias, Haemoproteidae, Leucocytozoidae e Plasmodiidae, respectivamente. Para além destes,

embora mais raros e pouco estudados, outros hemoparasitas como os gêneros *Trypanosoma*, *Hepatozoon*, *Babesia* e *Atoxoplasma* e formas larvares imaturas de nemátodes produtores de microfilárias, têm sido descritos nas aves (Valkiūnas, 2005; Hauptmanová *et al.*, 2006; Clark *et al.*, 2009).

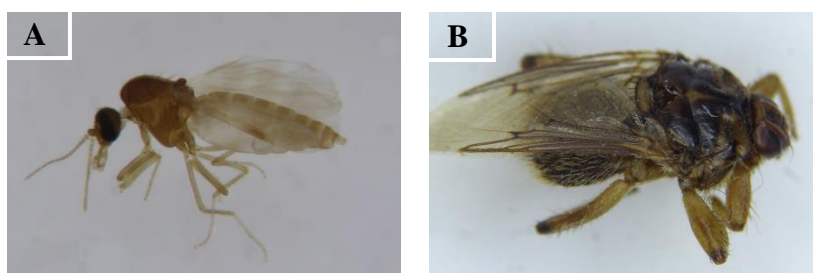
Os três gêneros de hemosporídeos mais frequentes em aves apresentam ciclos de vida muito semelhantes, havendo no entanto diferenças durante a fase assexuada do ciclo, mais propriamente nos tecidos infectados do hospedeiro vertebrado e na concentração dos estádios sanguíneos, originando assim diferentes níveis de virulência (Valkiūnas, 2005; Santiago-Alarcon *et al.*, 2012). Porém, a infecção de aves por estes hemoparasitas apresenta fases clínicas semelhantes, que podem ser divididas em: i) Fase pré-patente – desenvolvimento do parasita nos tecidos, estando ausente da circulação sanguínea; ii) Fase aguda – aparecimento do parasita no sangue juntamente com um forte aumento da parasitemia; iii) Fase de crise – quando a parasitemia e o *stress* fisiológico atingem o pico; iv) Fase latente ou crônica – redução acentuada da parasitemia como resposta do sistema imunitário do hospedeiro, exibindo poucos ou nenhuns sinais de infecção (Valkiūnas, 2005).

### **1.2.1. Descrição dos diferentes gêneros de hemoparasitas e respectivos ciclos de vida**

#### **1.2.1.1. *Haemoproteus***

O género *Haemoproteus* compreende os hemosporídeos mais comuns, com cerca de 135 espécies identificadas, cada uma com relativa especificidade para a família de hospedeiros, e de ampla distribuição em aves selvagens, tendo já sido reportados casos de parasitismo em 72 famílias de aves pertencentes a 25 ordens, nas quais se verifica maior incidência em Passeriformes (Campbell, 1995; Wiersch *et al.*, 2006; Atkinson, 2008a). Transmitidos por insectos hematófagos, mais concretamente culicídeos (família: Ceratopogonidae; género: *Culicoides*) e moscas hipoboscídeas (família: Hippoboscidae; género: *Pseudolynchia*) (Figura 1), nestes ocorre o desenvolvimento sexual (gametogénese e fertilização) e assexuado (esporogonia) do parasita, enquanto no hospedeiro vertebrado ocorrem somente fases assexuadas (merogonia) (Campbell, 1995; Friend & Franson, 1999; Valkiūnas, 2005; Santiago-Alarcon *et al.*, 2012).





**Figura 1 – Vectores *Culicoides* sp. (A) e *Pseudolynchia* sp. (B) responsáveis pela transmissão do género *Haemoproteus*. (Originais)**

Uma vez infectado pelo parasita, durante a alimentação de sangue, o vector inocula esporozoítos na circulação sanguínea da ave, dando-se assim início à merogonia no interior de células endoteliais, dos pulmões (mais frequentemente), fígado, rins ou baço, células do sistema linfóide, nomeadamente macrófagos, e miofibroblastos. Os merontes exoeritrocitários aí formados (contendo merozoítos de forma alongada), reproduzem-se assexuadamente pelo menos durante duas gerações, maturando e formando megalomerontes (merontes de 2<sup>a</sup> geração). Após a ruptura dos megalomerontes, os merozoítos de forma arredondada, são libertados em circulação, penetrando no interior dos eritrócitos circulantes, dando origem aos gametócitos. Contudo apenas entre o segundo e o sexto dia, após a penetração eritrocitária, surgem os primeiros gametócitos com capacidade de realizar gametogénese (Gardiner *et al.*, 1988; Valkiūnas, 2005; Atkinson, 2008a).

O período pré-patente deste parasita varia entre 10 dias a três semanas, ou seja, apenas é possível detectar os gametócitos intraeritrocitários pigmentados (formas parasitárias de diagnóstico) na circulação sanguínea das aves parasitadas, findo esse tempo (Valkiūnas, 2005). Esses pigmentos, denominados hemozoína, resultam da digestão incompleta da hemoglobina presente nos eritrócitos e apresentam-se como grânulos dourados-acastanhados, castanhos ou negros, que consoante o seu número, forma e posição, poderão ser determinantes para a classificação da espécie de *Haemoproteus* spp. (Valkiūnas, 2005; Atkinson, 2008a). Juntamente com estes pigmentos, em determinadas espécies deste género, é possível observar grânulos de cor violeta, não refringentes à luz, denominados valutina ou pseudo-pigmentos (Valkiūnas, 2005).

Os gametócitos de *Haemoproteus* apresentam cinco formas morfológicas típicas, nomeadamente, microhalteridial, halteridial, circumnuclear, rabdosossal e discossossal,

sendo a halteridial a mais comum (Bennett *et al.*, 1994; Valkiūnas, 2005; Clark *et al.*, 2009). Além disto, em algumas espécies deste género, é possível diferenciar os gametócitos detectados em esfregaços sanguíneos, em macro e microgametócitos, tendo em conta determinadas características das formas parasitárias: os macrogametócitos, apresentam o núcleo compacto, o citoplasma denso, basofílico e com grânulos de pigmento distribuídos uniformemente, enquanto os microgametócitos possuem o núcleo menos denso, o citoplasma mais claro com menos grânulos e distribuídos na posição polar (Clark *et al.*, 2009).

Após a fase aguda de parasitémia, em que verifica um elevado número de parasitas na circulação sanguínea das aves, a intensidade da infecção acaba por diminuir e estabilizar, todavia o parasita persiste no hospedeiro aviário (fase crónica). Graças à complexa interacção de inúmeros factores, como a imunidade da ave, a sazonalidade, a alteração do fotoperíodo e as alterações hormonais, são registados episódios de recaídas. As formas parasitárias e os mecanismos responsáveis pelas recaídas e manutenção da parasitémia crónica, são pouco conhecidos e estudados, no entanto, no caso de *H. mansonii*, atribui-se a responsabilidade aos merontes exoeritrocitários desenvolvidos nas células reticulares do baço (Valkiūnas, 2005; Atkinson, 2008a).

Em climas temperados, a época de reprodução das aves ocorre em paralelo com o aumento de vectores, o que coincide com o aumento sazonal da parasitémia, denominando-se esse episódio, como “recaída de Primavera” (Valkiūnas, 2005; Atkinson, 2008a). Segundo Valkiūnas *et al.* (2004), a “recaída de Primavera” é desencadeada pelo *stress* vivido por algumas aves na altura da nidificação, nomeadamente pela mudança de habitat, e pelo aumento do fotoperíodo durante a Primavera. Consequentemente, estes dois factores despoletam alterações fisiológicas hormonais da ave, nomeadamente devido ao aumento da concentração de corticosterona (considerada a hormona do *stress*) e de melatonina (hormona reguladora dos ritmos circadianos), e estes sim podem influenciar os períodos de recaída.

O vector contrai o parasita, ao realizar a alimentação de sangue numa ave infectada, com os estádios sexuais maduros de *Haemoproteus* spp., denominados macrogametócitos e microgametócitos, o correspondente às formas femininas e masculinas, respectivamente. Uma vez infectado, ocorrerá o desenvolvimento sexual (gametogénese e fertilização) e desenvolvimento assexuado (esporogonia), resultando na produção de esporozoítos, que serão inoculados nas aves, durante a próxima refeição de sangue (Valkiūnas, 2005; Atkinson, 2008a). Dada a semelhança do ciclo de vida dos

parasitas dos géneros *Haemoproteus* e *Plasmodium*, nos vectores, este encontra-se descrito mais pormenorizadamente, no capítulo relativo ao ciclo de vida do hemosporídeo *Plasmodium* (1.2.1.2. *Plasmodium*).

O desenvolvimento do parasita é similar em ambos os vectores, no entanto divergem na dimensão do oocisto, na duração da esporogonia e no número de esporozoítos produzidos (Atkinson, 2008a).

#### **1.2.1.2. *Plasmodium***

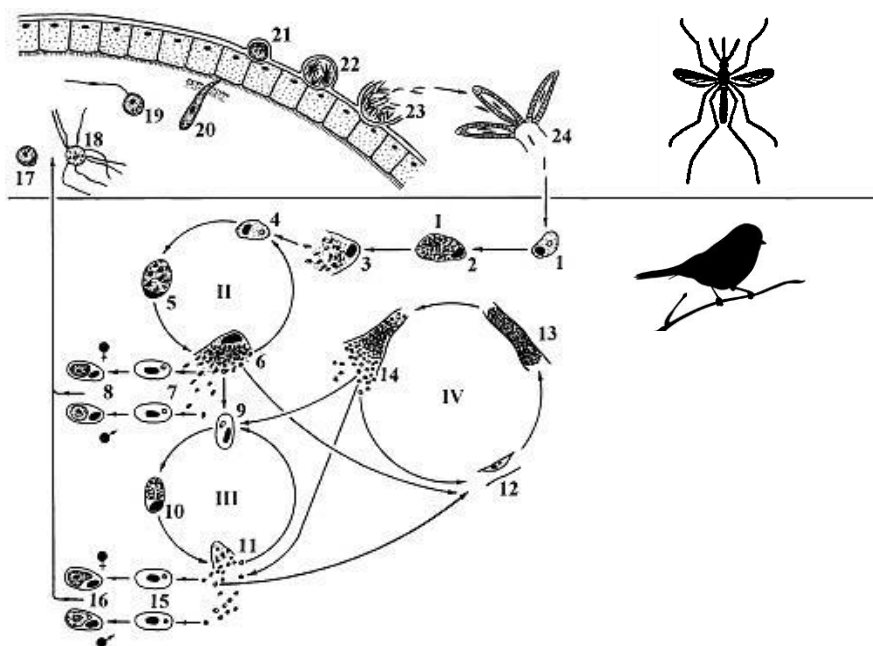
O género *Plasmodium* compreende mais de 40 espécies responsáveis pela malária aviária. É encontrado nas principais regiões zoogeográficas do mundo, excepto na Antárctida, devido à inexistência de insectos vectores. Com excepção das ordens Struthioniformes, Coliiformes e Trogoniformes, o género *Plasmodium* spp. já foi relatado em aves pertencentes a todas as ordens, com maior representatividade em Galliformes, Columbiformes, e Passeriformes (Valkiūnas, 2005; Atkinson, 2008b). Contrastando com a relativa especificidade para a família de hospedeiros observada nas espécies dos géneros *Haemoproteus* e *Leucocytozoon*, a maioria das espécies de *Plasmodium*, tem amplo espectro de hospedeiros, por exemplo a espécie *Plasmodium relictum*, já foi descrita em 419 espécies de aves, pertencentes a 70 famílias (Bennett *et al.*, 1993; Atkinson, 2008b).

A transmissão deste hemoprotozoário depende da presença de mosquitos culicídeos (vectores), pertencentes aos géneros *Culex* (Figura 2), *Aedes*, *Culiseta* e *Anopheles*, sendo este último género restrito à transmissão de algumas espécies de *Plasmodium*. Contudo, apenas as fêmeas destes dípteros são hematófagas, sendo estas responsáveis pelo desenvolvimento sexual do parasita e consequente dispersão do mesmo (Valkiūnas, 2005; Atkinson, 2008b).



**Figura 2 – Vector *Culex* sp., responsável pela transmissão do género *Plasmodium*.** (Original)

As características morfológicas e de desenvolvimento das espécies do género *Plasmodium* encontram-se intimamente relacionadas com os hemosporídeos dos géneros *Haemoproteus* e *Leucocytozoon*, contudo o género *Plasmodium* distingue-se de ambos por apresentar reprodução assexuada (merogonia), directamente em células sanguíneas, nomeadamente em eritrócitos circulantes (Atkinson, 2008b; Clark *et al.*, 2009). Juntamente a esta característica, o ciclo de vida do género *Plasmodium* (Figura 3) é mais complexo, sobretudo no desenvolvimento do parasita no hospedeiro vertebrado. Neste, o desenvolvimento pode ser dividido em, merogonia exoeritrocitária, merogonia eritrocitária e formação de gametócitos. Por sua vez, o primeiro estágio de desenvolvimento pode ainda ser dividido em merogonia exoeritrocitária primária ou pré-eritrocítica, que consiste em duas gerações de merontes, e merogonia exoeritrocitária secundária ou pós-eritrocítica, que consiste em várias gerações de merontes (Valkiūnas, 2005).



**Figura 3 – Representação esquemática do ciclo de vida de hemosporídeos do gênero *Plasmodium* (neste caso *Plasmodium relictum*).** Legenda: I e II – Merogonia pré-eritrocítica; III – Merogonia eritrocitária; IV – Merogonia pós-eritrocítica. Na ave: 1) Esporozoítos inoculados pelo vector penetram em células reticuloendoteliais; 2) Maturação de criptozoítos; 3) e 4) Libertação de merozoítos com tropismo para macrófagos; 5) Maturação de metacriptozoítos; 6) Merozoítos exoeritrocitários, induzem: merogonia eritrocitária, merogonia pré e pós-eritrocitária e formação de gametócitos; 7) e 8) Penetração dos merozoítos em eritrócitos e respectiva formação dos gametócitos; 9) e 10) Penetração dos merozoítos em eritrócitos e respectiva maturação em merontes eritrocitários; 11) Libertação de merozoítos eritrocitários, induzindo: merogonia eritrocitária pós-eritrocitária e formação de gametócitos; 12) e 13) Penetração dos merozoítos em células endoteliais de capilares e respectiva maturação em fanerozoítos; 14) e 15) Libertação de merozoítos exoeritrocitários e penetração nos eritrócitos; 16) Desenvolvimento dos gametócitos. No vector: 17) Macrogâmetas; 18) Exflagelação de microgametócitos formando microgâmetas; 19) Fertilização de macrogâmetas por parte de microgâmetas; 20) Penetração do oocineto na lâmina basal do intestino; 21) Formação do oocisto; 22) a 24) Esporogonia e dispersão dos esporozoítos para as glândulas salivares do vector, onde maturam até à sua inoculação na ave. (Adaptado de Valkiūnas (2005))

Após a alimentação de sangue e respectiva inoculação de esporozoítos na ave, por parte dos vectores hematófagos, dá-se início à merogonia pré-eritrocítica primária em células reticuloendoteliais de vários órgãos, principalmente do baço, e tecidos do hospedeiro vertebrado, incluindo a pele, originando a primeira geração de merontes exoeritrocitários primários, ou criptozoítos (Valkiūnas, 2005; Atkinson, 2008b).

Os merozoítos resultantes da primeira geração de merontes, não tendo a capacidade de parasitar células sanguíneas, parasitam macrófagos dos capilares sanguíneos cerebrais, rins, pulmões e principalmente do fígado e baço, desenvolvendo assim a segunda geração de merontes exoeritrocitários primários (metacriptozoítos).

Após a ruptura destes, são libertados em circulação merozoítos com capacidade de parasitar: i) células endoteliais de diversos órgãos, que induzem merogonia pós-eritrocítica e novas gerações de merogonia pré-eritrocítica; ii) eritrócitos, que induzem a merogonia eritrocitária e a formação de gametócitos (Valkiūnas, 2005; Peirce, 2007; Atkinson, 2008b).

Os merozoítos capazes de penetrar eritrócitos tornam-se redondos ou ovais, passando assim à fase de trofozoítos (Campbell, 1995, 2012; Valkiūnas, 2005). As formas jovens dos trofozoítos de algumas espécies de *Plasmodium*, contêm um grande vacúolo, responsável pelo deslocamento do núcleo do parasita para uma das bordas, conferindo-lhes assim um aspecto característico de anel (Campbell, 2012; Valkiūnas, 2005). O crescimento do parasita no eritrócito é acompanhado pelo aumento do tamanho do seu núcleo, pelo incremento da quantidade de citoplasma presente no vacúolo, adquirido por ingestão de citoplasma da célula parasitada, por meio de uma estrutura especializada denominada de citostoma, e pelo aparecimento de grânulos de pigmento malárico ou hemozoína, como subproduto insolúvel resultante da digestão incompleta da hemoglobina eritrocitária (Valkiūnas, 2005; Atkinson, 2008b).

Após a primeira divisão assexuada do núcleo do parasita, o trofozoíto diferencia-se em meronte eritrocitário (Valkiūnas, 2005). Esta forma parasitária, apresenta-se com forma redonda ou alongada, é constituída por 8-32 merozoítos unicelulares ovóides, e por pigmentos de hemozoína dourados, castanhos ou pretos, que tendem a agrupar-se, no caso merontes maduros, resultando em aglomerados de pigmentos (Gardiner *et al.*, 1988; Atkinson, 2008b; Campbell, 2012). A ruptura dos merontes eritrocitários maduros liberta em circulação merozoítos capazes de induzir novos ciclos de merogonia eritrocitária, a formação de gametócitos e a merogonia pós-eritrocítica (Atkinson, 2008b). Cada ciclo de merogonia eritrocitária dura aproximadamente 24h a 36h, contudo estes ciclos continuam por tempo indefinido até que o sistema imunitário da ave intervenha, ou que esta morra (Peirce, 2007; Valkiūnas, 2005).

Parte dos merozoítos provenientes dos merontes eritrocitários e dos metacriptozoítos, parasitam células endoteliais de capilares de diversos órgãos, incluindo o cérebro, prosseguindo assim o desenvolvimento assexuado exoeritrocitário, nomeadamente a merogonia pós-eritrocítica (Atkinson, 2008b). A maturação dos merontes exoeritrocitários secundários (fanerozoítos), e consequente ruptura, liberta na circulação, merozoítos capacitados de parasitar eritrócitos e células endoteliais, continuando o desenvolvimento assexuado do parasita (Valkiūnas, 2005).

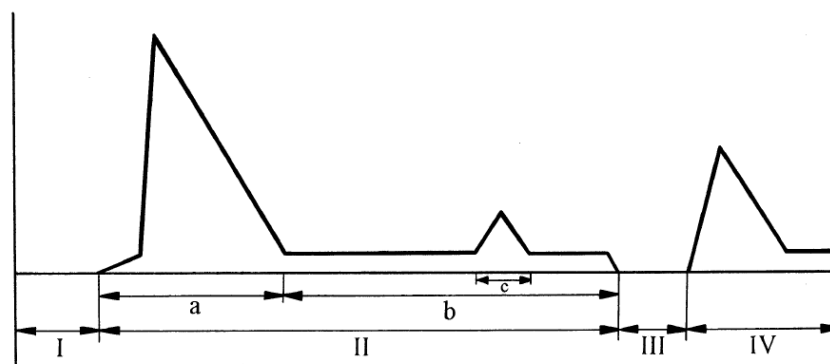
Procedentes de metacriptozoítos, fanerozoítos e merontes eritrocitários, os merozoítos capazes de parasitar eritrócitos, em vez de sofrerem reprodução assexuada, conforme descrito anteriormente, podem iniciar o desenvolvimento sexual, formando macro e microgametócitos, as formas infectantes para o vector, que se mantém na circulação sanguínea da ave, sem continuar o seu desenvolvimento, até serem ingeridos pelos dípteros (Gardiner *et al.*, 1988; Peirce, 2007; Atkinson, 2008b).

Com excepção dos fanerozoítos desenvolvidos nas células endoteliais do cérebro, que apresentam forma alongada, os merontes exoeritrocitários (criptozoítos, metacriptozoítos e fanerozoítos), apresentam formas morfológicas redondas ou ovais com grânulos de pigmentos de hemozoína, refringentes à luz. A grande diferença dos merontes exoeritrocitários, e fundamental na diferenciação de determinadas espécies de *Plasmodium*, é o número merozoítos neles contidos (Valkiūnas, 2005; Clark *et al.*, 2009).

Por sua vez, os gametócitos de *Plasmodium* spp. são polimórficos, podendo apresentar-se com formas morfológicas irregulares, redondas ou alongadas. Estes possuem vários grânulos de pigmento de hemozoína, refringentes à luz, de cor dourada, preta ou castanha (Clark *et al.*, 2009; Campbell, 2012). Além destas características, a influência que os gametócitos têm sobre as células parasitadas, ou seja, a possível deformação do eritrócito e deslocamento do núcleo, são características essenciais para a correcta identificação da espécie de *Plasmodium* (Valkiūnas, 2005).

Uma vez no intestino do vector, os gametócitos maduros de *Plasmodium* spp., abandonam os eritrócitos e passam por gametogénese, dando origem ao microgâmeta, resultante da exflagelação do microgametócito, e ao macrogâmeta, resultante do macrogametócito. Após a fertilização dos macrogâmetas, por parte dos microgâmetas flagelados, desenvolve-se o zigoto móvel, ou oocineto, que penetrará o epitélio intestinal do vector e sob a lâmina basal, torna-se esférico, originando os oocistos. Estes sofrem esporogonia (desenvolvimento assexuado), resultando na produção de esporozoítos, que serão gradualmente libertados na hemolinfa, com a ruptura de oocistos maduros. Alguns dos esporozoítos migram até às glândulas salivares, onde permanecem semanas até se tornarem viáveis, e passando através dos ductos salivares dos vectores hematófagos são inoculados nas aves, durante a refeição de sangue (Kappe *et al.*, 2003; Valkiūnas, 2005; Atkinson, 2008b). O esquema do desenvolvimento de *Plasmodium* spp. nos vectores, ocorre de forma semelhante nos vectores dos hemosporídeos dos géneros *Haemoproteus* e *Leucocytozoon* (Valkiūnas, 2005).

Segundo Valkiūnas (2005) após o período pré-patente, em que o parasita se desenvolve nos órgãos internos, a dinâmica da parasitemia do hemoprotozoário *Plasmodium* spp. (Figura. 4), em aves, caracteriza-se por três fases distintas da parasitemia inicial: a) fase aguda – Geralmente coincidindo com a maturação da primeira geração de fanerozoítos, nesta fase regista-se um aumento acentuado do número de parasitas na circulação sanguínea de aves, até atingir o seu pico, cerca de 6-12 dias após surgirem os primeiros merontes eritrocitários. Esta fase varia de uma a várias semanas ou mesmo meses, sendo esta variação temporal dependente de factores como, a espécie e a estirpe do parasita, a espécie de ave, entre outros; b) fase crónica – diminuição progressiva da parasitemia nas aves sobreviventes à fase aguda, atingindo níveis crónicos de infecção. Graças aos fanerozoítos e aos merontes eritrocitários, a intensidade da parasitemia é mantida em níveis crónicos durante períodos de tempo variável, que podem durar toda a vida do hospedeiro. Nesta fase apenas alguns parasitas são encontrados na circulação sanguínea da ave; c) fase de recrudescente – eventuais quebras na imunidade da ave, durante a fase crónica da parasitemia, conduzem a um aumento rápido, mas de curta duração do número de parasitas no sangue.



**Figura 4 – Representação esquemática da dinâmica da parasitemia da malária aviária.** Legenda: I – período pré-patente (desenvolvimento do parasita em órgãos internos); II – período de parasitemia inicial; III – período de latência da infecção (ausência do parasita da circulação sanguínea das aves, mas persistência nos órgãos internos); IV – período de parasitemia secundária devido a uma recaída (aumento súbito no número de parasitas em circulação, devido a uma recaída); a – c: fase da parasitemia: a) fase aguda – aumento acentuado do número de parasitas na circulação sanguínea de aves; b) fase crónica – as aves sobreviventes à fase aguda, atingem níveis crónicos de infecção, que podem permanecer toda a vida. Nesta fase, apenas alguns parasitas são encontrados na circulação sanguínea; c) fase de recrudescente – quebras na imunidade da ave, despoletam um aumento rápido, mas de curta duração do número de parasitas no sangue (Adaptado de Valkiūnas (2005)).



Após a fase crónica de parasitémia, as formas parasitárias desaparecem frequentemente do sangue periférico das aves persistindo apenas nos órgãos internos. Tal como ocorre com os hemosporídeos dos géneros *Haemoproteus* e *Leucocytozoon*, a combinação de factores, sobretudo abióticos, provocam a recaída e consequente aumento súbito da parasitémia, sendo a “recaída de Primavera” a mais comum (Valkiūnas, 2005).

Em simultâneo com a “recaída de Primavera”, graças às condições abióticas características desta época do ano, a população de vectores também aumenta. Nesse sentido, os vectores ficam sujeitos a maiores concentrações de gametócitos, presentes na circulação de aves em períodos de recaída, potenciando a propagação do parasita a aves susceptíveis, nomeadamente às suas crias (Valkiūnas, 2005; Atkinson, 2008b). Um dos factores abióticos que desempenha um papel fundamental, tanto no desenvolvimento dos vectores, como do parasita nos hospedeiros invertebrados, é a temperatura. Por exemplo, com 24/25°C, temperatura ideal ao desenvolvimento de *Plasmodium relictum* no vector, *Culex pipiens*, a esporogonia é completa em sete dias após a ingestão de gametócitos maduros. Pelo contrário quando os vectores são sujeitos temperaturas muito elevadas ou muito amenas, a viabilidade dos esporozoítos e dos oocistos diminui (Valkiūnas, 2005).

#### **1.2.1.3. *Leucocytozoon***

Com distribuição cosmopolita, exceptuando a Antártica, o género *Leucocytozoon*, com cerca de 60 espécies identificadas, todas com restrita especificidade para a família de hospedeiro, já foi descrito em 113 famílias de aves, correspondentes a 22 ordens, sendo Passeriformes, Galliformes e Coraciiformes, as mais representativas (Özmen *et al.*, 2005; Wiersch *et al.*, 2006; Forrester & Greiner, 2008). Os hemosporídeos pertencentes a este género são transmitidos por muscídeos simulídeos picadores/sugadores de sangue (família: Simuliidae) (Figura 5), com excepção da espécie *Leucocytozoon caulleryi*, que é transmitida por culicídeos (família: Ceratopogonidae) (Valkiūnas, 2005; Forrester & Greiner, 2008).



**Figura 5 – Vector *Simulium* sp. responsável pela transmissão do género *Leucocytozoon*. (Original)**

No que respeita ao ciclo de vida, o género *Leucocytozoon*, apresenta uma grande similaridade com os processos de reprodução sexuada (gametogénese e fertilização) e assexuada (esporogonia), ocorridos nos vectores dos géneros *Haemoproteus* e *Plasmodium*, e assim sendo, encontra-se descrito pormenorizadamente no capítulo relativo ao ciclo de vida do hemosporídeo *Plasmodium* spp. (1.2.1.2. *Plasmodium*). Relativamente ao desenvolvimento assexuado ocorrido nas aves parasitadas por *Leucocytozoon* spp., apresenta uma grande homologia com o género *Haemoproteus*, incluindo a ausência de merogonia eritrocitária, contudo exibem diferenças no tropismo das formas parasitárias (Valkiūnas, 2005; Forrester & Greiner, 2008).

Os esporozoítos inoculados pelo vector, na circulação sanguínea da ave, durante a alimentação de sangue, iniciam a merogonia exoeritrocitária nos hepatócitos (células parenquimatosas do fígado), macrófagos e noutros tipos de células reticuloendoteliais das aves, incluindo células endoteliais dos capilares sanguíneos. Findos aproximadamente cinco dias, os merontes exoeritrocitários de primeira geração encontram-se totalmente desenvolvidos e a sua ruptura, liberta: i) merozoítos que penetrarão em eritrócitos maduros e imaturos, levando à formação dos gametócitos de primeira geração; ii) sincícios (fragmentos citoplasmáticos de merontes hepáticos contendo dois ou mais núcleos), que serão fagocitados por macrófagos e outras células do sistema reticuloendotelial, principalmente do baço e gânglios linfáticos, levando ao desenvolvimento de merontes de segunda geração (megalomerontes). Após a ruptura dos megalomerontes, centenas de merozoítos são libertados em circulação, penetrando e desenvolvendo-se no interior de linfócitos, eritroblastos e eritrócitos levando à formação de gametócitos de segunda geração (Campbell, 1995, 2012; Valkiūnas, 2005; Forrester & Greiner, 2008).

As formas parasitárias de diagnóstico de *Leucocytozoon* e igualmente infecciosas para os vectores, os gametócitos (microgametócitos e macrogametócitos), presentes na circulação sanguínea das aves, são altamente polimórficos, apresentando na maioria das espécies, duas formas morfológicas distintas: os redondos, resultantes da primeira geração de merontes hepáticos e os fusiformes com origem nos megalomerontes (Valkiūnas, 2005; Forrester & Greiner, 2008; Clark *et al.*, 2009). Ambos caracterizam-se pela deformação das células parasitadas, nomeadamente com o aumento da sua dimensão, acompanhado com a distorção e deslocamento do núcleo, tornando assim difícil identificar a origem das células parasitadas. Estas características tornam-se mais evidentes no caso dos gametócitos fusiformes, uma vez que nestes, o núcleo e citoplasma da célula afilam para extremidades opostas da célula, tornando-as alongadas e com as particularidades distintivas deste género de hemoprotozoários (Campbell, 1995, 2012; Özmen *et al.*, 2005; Clark *et al.*, 2009).

Contrariamente ao que se verifica com os gametócitos de *Haemoproteus* e *Plasmodium*, as formas parasitárias do género *Leucocytozoon* não apresentam grânulos de pigmento refractário (hemozoína), uma vez que os merozoítos com desenvolvimento eritrocitário digerem por completo a hemoglobina aí presente (Campbell, 1995, 2012; Valkiūnas, 2005). Contudo em determinadas espécies de *Leucocytozoon*, é possível observar gametócitos com grânulos de valutina em tons azulados, pouco refringentes à luz (Valkiūnas, 2005). Os gametócitos da maioria das espécies deste género podem ser diferenciados em macrogametócitos, caracterizados pela sua coloração azul-escura, pelo seu núcleo basofílico e condensado e pelo seu citoplasma vacuolizado, e em microgametócitos, caracterizados pela sua coloração azul-pálida e pelo seu núcleo menos denso de cor rosa-pálido (Campbell, 1995; Clark *et al.*, 2009).

A dinâmica da parasitémia do género *Leucocytozoon* é muito idêntica à dos outros hemosporídeos, iniciando-se com a fase aguda de parasitémia, seguida da sua diminuição, até atingir a fase crónica. Esta fase mantém-se até que uma combinação de factores provoque uma recaída, havendo um súbito aumento da parasitémia. Assim como acontece com os hemoprotozoários descritos anteriormente, para além das recaídas não sazonais, que poderão ocorrer em qualquer época do ano, sazonalmente ocorre a “Recaída de Primavera” (Valkiūnas, 2005; Forrester & Greiner, 2008).

Conforme ocorre com género *Haemoproteus*, são os merontes exoeritrocitários que estimulam a fase crónica e as recaídas das aves parasitadas, contudo os respectivos

mecanismos são desconhecidos e a origem desses merozoítos diferem entre espécie de *Leucocytozoon* (Valkiūnas, 2005; Forrester & Greiner, 2008).

#### **1.2.1.4. *Trypanosoma***

Descrito pela primeira vez em aves, por Vasily Danilewsky em 1885, no sangue de *Strix aluco* (Coruja-do-mato), o género *Trypanosoma* (ordem: Kinetoplastida, família: Trypanosomatidae) compreende parasitas flagelados com ampla distribuição geográfica, excepto nas regiões polares, e descrito numa grande diversidade de aves selvagens, com maior incidência em Passeriformes, Galliformes, Anseriformes e Columbiformes (Votýpka *et al.*, 2002; Campbell, 2012; Zídková *et al.*, 2012). Evidências experimentais sugerem que a transmissão deste género às aves pode ser efectuada por uma ampla variedade de vectores hematófagos, nomeadamente simulídeos, culicídeos, ácaros (família: Dermanyssidae) e principalmente, moscas hipoboscídeas (Sehgal *et al.*, 2001; Votýpka *et al.*, 2002; Valkiūnas *et al.*, 2011). Com base no pressuposto da existência de especificidade das espécies de *Trypanosoma* para cada espécie de ave, foram descritas cerca de 100 espécies de tripanossomatídeos, no entanto, com o recurso a técnicas de biologia molecular, esse paradigma foi refutado, levando mesmo Peirce (2007) a considerar que pouco mais de 10 espécies deverão ser válidas (Votýpka *et al.*, 2002; Valkiūnas *et al.*, 2011; Zídková *et al.*, 2012).

Caracterizado por exibir várias formas morfológicas durante o ciclo de vida, o estágio presente no sangue periférico das aves e utilizado para diagnóstico do género *Trypanosoma*, denomina-se tripomastigota (Clark *et al.*, 2009; Valkiūnas *et al.*, 2011). Geralmente, este apresenta forma de “lâmina” alongada com, uma membrana ondulante ao longo de grande parte da extensão do parasita, um flagelo de curtas dimensões afilado na extremidade posterior, um cinetoplasto escuro e basofílico, localizado na região anterior, e um núcleo esférico centralizado, com características basofílicas (Clark *et al.*, 2009; Campbell 2012).

#### **1.2.1.5. *Hepatozoon***

Com base no pressuposto da existência de especificidade entre as espécies do género *Hepatozoon* (família: Hepatozoidae) e a espécie de ave parasitada, encontram-se descritas 15 espécies de *Hepatozoon*, contudo até ao momento não foram confirmadas

experimentalmente (Bennett *et al.*, 1992; Peirce, 2005; Shurulinkov, 2005). Considerado um parasita protozoário pouco comum em aves selvagens, dada a escassez de registos, desconhece-se o seu padrão de distribuição a nível mundial, porém Earlé & Bennett (1991) consideram-no mais frequente na região da África Subsaariana (Shurulinkov, 2005).

Os poucos estudos relativos ao ciclo de vida deste hemoparasita em aves permitiram a Bennett (1992) identificar um argasídeo e uma pulga, como possíveis hospedeiros invertebrados de *Hepatozoon*, sendo a sua ingestão acidental, responsável pela transmissão do parasita às aves. Além destes invertebrados, outros artrópodes como reduvídeos, ácaros, piolhos, ixodídeos e dípteros podem estar envolvidos na sua transmissão (Smith & Desser, 1997). Após a ingestão dos invertebrados, os esporozoítos parasitam leucócitos mononucleares (monócitos e linfócitos), onde sofrem merogonia e se diferenciam em, gametócitos, sendo impossível distinguir macro e microgametócitos. Os gametócitos são ovóides ou alongados, com extremidades arredondadas, um núcleo redondo basofílico, em posição central ou excêntrico sub-terminal e citoplasma pálido, ocasionalmente com grânulos azurófilos. Por vezes, é ainda possível distinguir um halo branco ao redor do parasita, denominado cápsula (Clark *et al.*, 2009; Biedrzycka *et al.*, 2013).

#### **1.2.1.6. *Babesia***

Os hemoparasitas do género *Babesia* (Apicomplexa: Piroplasmida), com apenas 13 espécies revistas e validadas por parasitarem aves, são protozoários pouco comuns nestes vertebrados, contudo, alguns autores acreditam que a ausência de registos se deva ao seu subdiagnóstico (Peirce, 2000, 2007).

Não se conhecendo os vectores transmissores deste hemoprotzoário às aves, assume-se que é feita por ixodídeos, como ocorre noutros grupos taxonómicos (Muñoz *et al.*, 1999a; Peirce, 2007). Uma vez na circulação da ave, estes piroplasmas parasitam o citoplasma de eritrócitos, onde os trofozoítos se reproduzem, por merogonia formando tétradas (Yabsley *et al.*, 2006; Peirce, 2007). Tipicamente *Babesia* spp., é observada como pequenas formas parasitárias, maioritariamente redondas em “forma de anel” no interior de eritrócitos, contudo formas ovóides, alongadas ou piriformes também são encontradas. Estas formas possuem uma massa de cromatina escura e excêntrica, e uma fina membrana limitante, que envolve o citoplasma basofílico pálido do parasita.

Contrastando com os géneros *Plasmodium* e *Haemoproteus*, não possuem pigmento de hemozoína (Yabsley *et al.*, 2006; Clark *et al.*, 2009).

#### **1.2.1.7. *Atoxoplasma***

O género *Atoxoplasma* (família: Eimeriidae), intimamente relacionado e incorporado no género *Isospora* por alguns investigadores, é considerada uma coccidia de aves com ampla distribuição geográfica, estando apenas ausente na Antárctida, e com maior incidência em Passeriformes. Transmitido directamente por via fecal-oral, o ciclo de vida de *Atoxoplasma* spp., caracteriza-se pela ocorrência de merogonia (formação de merozoítos) e gametogénese (formação de gâmetas) nos enterócitos do intestino da ave, e pela ocorrência de merogonia extra-intestinal, em leucócitos mononucleares circulantes (monócitos e especialmente linfócitos) (Peirce, 2007; Greiner, 2008; Clark *et al.*, 2009; Campbell, 2012).

Os leucócitos mononucleares parasitados, considerados uma das formas parasitárias de diagnóstico, apresentam citoplasma com pequenos merozoítos redondos a ovóides, com citoplasma basofílico pálido e um núcleo central basofílico a anfofílico. As inclusões citoplasmáticas parasitárias poderão ser responsáveis pelo ligeiro deslocamento do núcleo da célula hospedeira, resultando na denominada forma “lua crescente” (Campbell, 1995, 2012; Clark *et al.*, 2009).

#### **1.2.1.8. Microfilárias**

As microfilárias, estádios larvares sanguíneos de filárias, presentes no sangue periférico de uma ampla variedade de aves e outros vertebrados, são transmitidas por diversos vectores invertebrados, nomeadamente piolhos, culicídeos, simulídeos e culicídeos, cujo período de maior actividade coincide com o ritmo circadiano do parasita (Peirce, 2007; Bartlett, 2008). Considerados parasitas sanguíneos extracelulares de grande dimensão (comparativamente com os constituintes celulares do hospedeiro) e com ampla diversidade de formas, no que respeita ao seu comprimento e largura, as microfilárias apresentam tipicamente forma de serpentina e coloração basofílica (Clark *et al.*, 2009). Normalmente, as aves parasitadas por microfilárias exibem baixa parasitémia, traduzindo-se na sua relativa escassez na circulação sanguínea, logo a sua detecção fica comprometida, dado o pequeno volume de sangue utilizado para a

realização dos esfregaços sanguíneos (principal forma de diagnóstico) (Bartlett, 2008; Clark *et al.*, 2009).

### 1.2.2. Papel das migrações na dispersão de hemoprotozoários

As migrações sazonais de curta e principalmente de longa distância, fenómenos regulares realizados por muitas espécies de aves, sobretudo da região holártica, entre locais com diferentes condições ecológicas, são considerados pelos parasitologistas, comportamentos preponderantes para a transmissão e dispersão de hemoprotozoários. A correcta avaliação do papel das migrações na distribuição de hemoparasitas, requer considerações de um conjunto de factores, como: a singularidade das rotas migratórias de cada espécie, as características ecológicas dos locais de nidificação e invernada, a associação vector/parasita, a complexa estrutura das populações de aves e a sua constante mobilidade, que nem sempre foram avaliados em todos os trabalhos de investigação, conduzindo a resultados e conclusões pouco fidedignas (Valkiūnas, 2005). Embora escassos, os trabalhos com uma avaliação multidisciplinar deste paradigma, como os exemplos apresentados abaixo, mostram resultados consistentes quanto à transmissão de hemoprotozoários, tanto na região holártica, principal região de nidificação de aves migratórias, como em regiões tropicais e subtropicais, locais de invernada de aves migratórias, ou em ambas (Valkiūnas, 2005; Atkinson, 2008a).

*Acrocephalus arundinaceus* (Rouxinol-grande-dos-caniços), ave migratória de longa distância, nidificante na região paleártica e invernante na África Central, segundo Hasselquist *et al.* (2007) aparenta ser parasitada por *Haemoproteus payevskyi* nos locais de invernada ou em locais de paragem durante a migração, uma vez que a intensidade da parasitémia das populações suecas de aves amostradas durante anos consecutivos ao longo da época de nidificação diminuiu, e não foram registados novos casos de infecção. Por outro lado, Valkiūnas & Iezhova (2001) ao estudarem três subespécies de *Motacilla flava* (Alvéola-amarela) no Sul do Cazaquistão, durante a época de migração primaveril, constataram que a prevalência de *Haemoproteus* spp., *Plasmodium* spp. e *Leucocytozoon* spp., eram distintas. Considerando, as rotas migratórias e os locais de invernada em África semelhantes entre as três subespécies, a transmissão dos hemoprotozoários aparenta ocorrer nas diferentes localizações geográficas dos locais de nidificação das aves.

Mais recentemente com recurso a técnicas de biologia molecular, Waldenström *et al.* (2002) ao analisarem árvores filogenéticas de amostras de aves canoras, residentes em África e Europa, ou migratórias, sugerem que a transmissão de hemoprotozoários, ocorreu em ambos os continentes. Complementando estes resultados, Hellgren *et al.* (2007) constataram que apesar da ampla distribuição dos géneros *Haemoproteus* e *Leucocytozoon*, a sua transmissão encontra-se restrita a aves residentes no continente africano e europeu, sendo pouco provável a sua dispersão por intermédio das aves migratórias, enquanto o género *Plasmodium*, possivelmente devido ao menor grau de especificidade de hospedeiros, aparenta ser transmitido a aves residentes e mais tendencialmente a migratórias, facilitando assim a sua dispersão entre diferentes regiões, por intermédio dos seus movimentos sazonais.

Mesmo considerando as migrações como eventos regulares, segundo Hellgren *et al.* (2007) a introdução de parasitas em novas populações de aves, durante esses movimentos, são acontecimentos evolutivos relativamente raros. Por sua vez, Levin *et al.* (2013) isolaram pela primeira vez três novas linhagens de *Plasmodium* spp. em *Spheniscus mendiculus* (Pinguim-das-galápagos) residentes no arquipélago das Galápagos, que quando comparados com linhagens de *Dolichonyx oryzivorus* (Triste-pia), ave canora com hábitos migratórios entre a América do Norte e este arquipélago, duas dessas linhagens mostraram-se idênticas. Embora não se possa afirmar que *D. oryzivorus* sejam os responsáveis pela introdução dessas linhagens em sistemas isolados, como o Arquipélago das Galápagos, as evidências apontam para altas taxas de entrada de potenciais agentes patogénicos aviários, como os hemoparasitas, por meio das migrações.

### **1.2.3. Patogenia e Impacto dos hemoparasitas em aves selvagens**

Embora os hemoparasitas sejam habitualmente considerados pouco patogénicos para aves, estes podem infligir alterações patológicas com diversas formas de expressão. De uma forma geral, os hemoparasitas, directa ou indirectamente (por reacção do sistema imunitário do hospedeiro), produzem efeitos não apenas sobre as células parasitadas, mas também sobre células não parasitadas (Valkiūnas, 2005). Os efeitos sobre as células, diferem significativamente entre os géneros de hemoprotozoários em causa, e encontram-se relacionados com a fase de desenvolvimento do parasita, tal como:



- i) Desenvolvimento eritrocitário – a destruição dos eritrócitos, acompanhada de anemia, é o evento mais grave verificado em eritrócitos parasitados. Normalmente a anemia decorre como consequência da remoção da circulação sanguínea de eritrócitos parasitados, por parte de células do sistema reticuloendotelial do baço, fígado, medula óssea e outros órgãos (Valkiūnas, 2005). No caso de infecções por *Haemoproteus* spp., a anemia é menos pronunciada, no entanto, eventuais défices na capacidade do hospedeiro compensar as perdas de eritrócitos, a anemia poderá agravar-se (Atkinson *et al.*, 1988). Sendo mais evidente nas infecções pelos géneros *Plasmodium* e *Leucocytozoon*, a anemia intensifica-se respectivamente pelo desenvolvimento de um grande número de merontes eritrocitários, pelo aumento da fragilidade osmótica e hemólise dos eritrócitos, e pela destruição de eritrócitos não parasitados, tendo como resultado o aparecimento do designado “factor anti-eritrocitário” no plasma sanguíneo, cujo mecanismo ainda é desconhecido (Kocan, 1968; Valkiūnas, 2005).
- ii) Desenvolvimento exoeritrocitário: Salvo raras excepções, como ocorre com *Haemoproteus mansonii* (= *H. meleagridis*), em que o desenvolvimento de merontes de primeira geração resulta na necrose de fibras musculares, praticamente não existem lesões associadas ao desenvolvimento da primeira geração de merontes exoeritrocitários (Atkinson *et al.*, 1988; Valkiūnas, 2005). Mesmo com as diferenças na gravidade das alterações patológicas entre hemoprotozoários, de uma forma geral, nas gerações seguintes de merontes, as alterações patológicas, tornam-se mais exuberantes, podendo resultar, na inflamação de diversos órgãos, nomeadamente fígado e baço, por vezes acompanhada por hepatomegalia e esplenomegalia, sobretudo em infecções com os géneros *Plasmodium* e *Leucocytozoon*, e em focos necróticos, nos casos de infecções agudas (Valkiūnas, 2005; Atkinson, 2008a, 2008b; Forrester & Greiner, 2008).

As lesões mais graves de *Plasmodium* spp., desencadeadas pelo bloqueio dos capilares sanguíneos do cérebro, pulmões, rins e coração, por parte de fanerozoítos e metacriptozoítos, resultam na alteração do aporte sanguíneo ao órgão afectado, na anóxia dos tecidos adjacentes aos merontes e na morte celular (Permin & Juhl, 2002;

Valkiūnas, 2005; Atkinson, 2008b). No caso de infecção por algumas espécies de *Leucocytozoon*, a inflamação dos capilares sanguíneos durante as fases iniciais de maturação de megalomerontes, dá lugar a hemorragias, a focos necróticos e a calcificações após a ruptura dos parasitas (Valkiūnas, 2005; Forrester & Greiner, 2008). Em ambos os géneros parasitários, quando a necrose ocorre a nível cerebral, as aves apresentam sinais de paralisia cerebral (Valkiūnas, 2005).

As alterações patológicas mais graves causadas por *Haemoproteus* spp. provêm da resposta inflamatória hemorrágica nos miofibroblastos de músculos esqueléticos em torno dos megalomerontes aí presentes, resultando em miosite hemorrágica aguda, calcificação distrófica, focos de necrose e miopatia (Atkinson & Forrester, 1987; Atkinson *et al.*, 1988).

Apesar dos resultados de patogenicidade dos hemoparasitas apresentados serem baseados em resultados de trabalhos experimentais em aves de cativeiro e a extrapolação directa destes para aves selvagens ser um procedimento falacioso, muitos estudos têm demonstrado uma diversidade de impactos para aves selvagens hemoparasitadas (Valkiūnas, 2005). De entre estes impactos, foram reportados casos de mortalidade e outras condições de morbilidade, desde a redução da condição corporal, como relatado por Garvin *et al.* (2006) em aves migratórias parasitadas por *Haemoproteus* spp., nomeadamente *Piranga olivacea* (Sanhaçu-escarlate) com défice de gordura e *Pheucticus ludovicianus* (Bico-grosso-tricolor) e *Icterus galbula* (Corrupião-de-Baltimore), com défice de massa corporal, e redução dos índices reprodutivos, como observado por Korpimäki *et al.* (1993) pela diminuição do tamanho da ninhada de *Aegolius funereus* (Mocho-de-Tengmalm) possivelmente causada pela anemia das fêmeas parasitadas por *Leucocytozoon danilewskyi* (= *L. ziemanni*).

Um dos casos mais evidentes de mortalidade foi constatado por Herman *et al.* (1975), num dos primeiros projectos de reintrodução de espécies em habitats, onde se encontravam extintos. A reintrodução do Ganso-do-Canadá (*Branta canadensis*), no Norte da península de Michigan, mais propriamente no *Seney National Wildlife Refuge*, onde actualmente se encontrava extinto, foi um fracasso, devido à transmissão activa de *Leucocytozoon*, sendo que este se tornou letal para a grande maioria das aves (Herman *et al.*, 1975). Desde então, a implementação de projectos de reestruturação populacional de aves, requer sempre dados relativos à situação parasitológica da região e das aves em causa (Valkiūnas, 2005).

Considerando os casos de mortalidade e morbilidade, alguns autores consideram os hemoparasitas como agentes de selecção natural (Tomé *et al.*, 2005; van Rooyen *et al.*, 2013), principalmente no caso de aves residentes, não migratórias, de ilhas e arquipélagos isoladas, como Havaí e Galápagos, como demonstrado respectivamente por van Riper III *et al.* (1986) e Levin *et al.* (2009).

#### **1.2.4. Imunidade e Resistência natural a hemoparasitas**

A longa coevolução entre hemoparasitas e hospedeiros, permitiu a algumas aves adquirirem resistência a infecções parasitárias, devido à acção da imunidade inata. Esta forma de imunidade resulta da interacção de factores biológicos e fisiológicos, determinando a potencial especificidade do parasita a aves e a susceptibilidade destas ao parasita. Apesar do pouco conhecimento sobre a imunidade adquirida em aves, esta aparenta igualmente responder a infecções parasitárias, caso exista contacto prévio do hospedeiro com o parasita. Esta resposta de memória, mantida durante um certo período tempo após o primeiro contacto, restringe ou impede na totalidade processos patológicos durante eventuais reinfecções (Valkiūnas, 2005; Tizard, 2012).

No caso de infecção de *Columba livia* (Pombo-das-rochas) por *Haemoproteus columbae*, Sol *et al.* (2003) constataram que após o período de exposição, as aves adquirem algum grau de imunidade contra o parasita tornando-se capazes de suprimir a intensidade da infecção. Em infecções crónicas, a constante estimulação imunitária, permite às aves adultas adquirirem imunidade (premunição) contra *H. columbae* (Ahmed & Mohammed, 1978; Sol *et al.*, 2003). Contudo, no caso de aves jovens, Ahmed & Mohammed (1978) relataram que estas não adquirem imunidade, estando susceptíveis à reinfecção por este hemoparasita.

Durante as infecções por *Plasmodium* spp., o sistema imunitário das aves, desenvolve fortes respostas antigénio-anticorpo mediadas por células contra a fase de desenvolvimento eritrocitário do parasita. Contudo a incapacidade de eliminar completamente o parasita durante esta fase de desenvolvimento, contribui para a permanência da infecção em níveis crónicos durante toda a vida da ave (Atkinson, 2008b). Conforme demonstrado por Jarvi *et al.* (2002) e Young *et al.* (2004), a manutenção de infecções crónicas de *P. relictum* e *P. hermani*, em *Hemignathus virens* (Amakí-do-Havaí) e *Meleagris gallopavo* (Peru-bravo) respectivamente, permite às

aves adquirirem imunidade contra eventuais casos de reinfecção pelas mesmas espécies de parasitas.

Apesar do relativo desconhecimento sobre a imunidade inata e adquirida em aves parasitadas por *Leucocytozoon* spp., Fallis *et al.* (1974) constataram que após infecção primária de *L. simondi*, a constante exposição, de *Anas platyrhynchos* (Pato-real) a esporozoítos inoculados por vectores infectados, permite-lhes adquirirem momentaneamente imunidade. Contudo a permanência da infecção em níveis crónicos e a ausência prolongada de exposição a vectores, permite a presença de merontes exoeritrocitários e gametócitos em circulação, os quais não só, não previnem a reinfecção como aparentam potenciar a morte de aves reinfectadas (Fallis *et al.*, 1974; Valkiūnas, 2005; Forrester & Greiner, 2008).

#### **1.2.5. Detecção dos hemoparasitas**

O método mais frequentemente utilizado pelos hematologistas para a detecção e identificação de hemoparasitas, baseia-se na observação de esfregaços sanguíneos ao microscópio óptico, durante o exame regular de avaliação das características hematológicas das aves. A detecção e identificação das formas parasitárias é baseada nas características morfológicas específicas das formas parasitárias presentes na circulação sanguínea das aves (Clark *et al.*, 2009).

Contudo, a detecção de hemoparasitas com recurso à microscopia óptica, nem sempre é possível dada a sua baixa sensibilidade. Geralmente a intensidade da parasitémia é baixa, menos de 1 parasita por 1000 eritrócitos (<0,001%), tornando deficitária a avaliação de infecções leves. Alguns autores consideram mesmo que a identificação de hemoparasitas, com maior certeza, requer parasitémias relativamente intensas (> 0,1%) (Valkiūnas, 2005; Valkiūnas *et al.*, 2008; Clark *et al.*, 2009).

Nesse sentido, além dos métodos tradicionais, as recentes técnicas de biologia molecular, nomeadamente a Reacção de Polimerização em Cadeia (PCR), têm sido utilizadas na detecção de hemoparasitas aviários, nomeadamente em situações em que, apenas pequenos volumes de sangue estão disponíveis e poucos hemoparasitas estão presentes (Valkiūnas, 2005; Clark *et al.*, 2009). Apesar destes métodos não serem amplamente utilizados durante os testes de rotina de identificação de hemoparasitas, estes podem eventualmente clarificar a situação taxonómica de muitas espécies (Peirce, 2005; Clark *et al.*, 2009). Além disso, a aplicação de *multiplex* PCR, permite uma

análise em larga escala de hemoparasitas, mais rápida, mais barata e mais confiável, do que a análise microscópica (Valkiūnas *et al.*, 2008).

### **1.3. Ectoparasitas**

Os artrópodes (filo: Arthropoda), compreendem mais de 80% das espécies do reino animal. As principais características, salvo algumas exceções, são o corpo segmentado, com exosqueleto quitinoso e membros articulados, sendo considerados um amplo grupo de ectoparasitas de aves. Os artrópodes com importância veterinária, pertencem às classes, Insecta, Arachnida e Crustacea, sendo a última compreendida por espécies que servem de hospedeiros intermediários (HI) para helmintes, não sendo por isso abordada neste capítulo (Wall & Shearer, 2001).

De entre os insectos ectoparasitas de aves, são de destacar: i) dípteros (ordem: Diptera), com distribuição cosmopolita, estes invertebrados são conhecidos por serem vectores de outros grupos parasitários, nomeadamente hemoparasitas; ii) pulgas (ordem: Siphonaptera), conhecidas por se alimentarem de sangue de vertebrados, este grupo de parasitas tem pouca representatividade em aves, sendo que no caso de aves selvagens são mais comuns nos ninhos; iii) piolhos (ordem: Phthiraptera), grupo de ectoparasitas mais representativo em aves selvagens, sendo por isso o único descrito com mais pormenor (Zucca & Delogu, 2007a; Bowman, 2008a).

Relativamente aos aracnídeos (classe: Arachnida) ectoparasitas de aves, são de destacar: i) carrças ou ixodídeos (ordem: Metastigmata; famílias: Ixodidae e Argasidae) são considerados vectores hematófagos de agentes patogénicos para vertebrados, como vírus, bactérias e protozoários, incluindo *Hepatozoon* e *Babesia*; ii) ácaros (ordens: Astigmata, Prostigmata e Mesostigmata), considerados um dos grupos de ectoparasitas e por vezes, endoparasitas, mais comum em aves selvagens, sendo por isso o único descrito em pormenor (Silva *et al.*, 2006; Zucca & Delogu, 2007a).

#### **1.3.1. Descrição dos ectoparasitas mais comuns e respectivos ciclos de vida**

##### **1.3.1.1. Piolhos**

Os piolhos de aves, denominados malófagos, são considerados os ectoparasitas mais comuns neste grupo de vertebrados, com 3910 espécies válidas, incluídas em duas

subordens, nomeadamente *Amblycera* e *Ischnocera*, sendo a segunda a mais representativa, com cerca de 70% das espécies (Price *et al.*, 2003). Os malófagos são caracterizados pela sua reduzida dimensão ( $\leq 0,8-11$  mm), corpo segmentado, achatado dorso-ventralmente, sem asas, olhos primitivos, por vezes ausentes, peças bucais mastigadoras e antenas segmentadas (Wall & Shearer, 2001; Zucca & Delogu, 2007a).

Considerados parasitas obrigatórios, com todo o ciclo de vida a ocorrer nas aves, os malófagos são hemimetabólicos (metamorfoses incompletas), sendo assim o seu desenvolvimento constituído por: ovo, com período de incubação de 4-10 dias, três estádios de ninfa (mesma aparência dos adultos), cada uma com 3-12 dias de desenvolvimento e fase adulta, cada um a viver cerca de um mês, com as fêmeas a produzirem cerca de 1 ovo por dia, até um total de 12-20 ovos (Clayton *et al.*, 2008).

A transmissão destes ectoparasitas às aves é facilitada pelo contacto directo entre hospedeiros, principalmente entre os membros de casais, e entre estes e as suas ninhadas (Hillgarth, 1996; Tompkins *et al.*, 1996). Contudo segundo Keirans (1975), espécies de *Ischnocera* podem ser transportadas em associação forética, com moscas hipoboscídeas, sendo este transporte pouco provável no caso de *Amblycera*, possivelmente pela fraca adesão das suas peças bucais.

Muitos dos malófagos apresentam alta especificidade para o hospedeiro, ocorrendo ao nível do género ou espécie de ave, contudo, existem casos de piolhos menos específicos, que segundo Clayton *et al.* (2004), em parte podem ser explicados, pelo facto de moscas hipoboscídeas, “meio de transporte” de espécies de *Ischnocera*, serem poucos específicas ao nível dos hospedeiros (Clayton *et al.*, 2008). A distribuição geográfica destes ectoparasitas, em grande parte corresponde à distribuição das aves, contudo podem exibir a denominada “especificidade geográfica”, restringindo a sua dispersão. Esta é igualmente condicionada negativamente por factores abióticos, como a humidade e temperatura (Johnson & Clayton, 2003).

As duas subordens de malófagos de aves são distinguidos morfológicamente pelo: i) número de segmentos das antenas – 4 segmentos protegidos por sulcos antenais, em que 3 são pedunculados, no caso dos *Amblycera* e 3-5 segmentos filiformes totalmente expostos nas espécies de *Ischnocera*; ii) palpos maxilares – apenas presentes nas espécies de *Amblycera*; iii) movimento das peças bucais – vertical no caso de *Amblycera* e horizontal no caso de *Ischnocera* (Wall & Shearer, 2001; Clayton *et al.*, 2008). Além das características morfológicas, as subordens *Amblycera* e *Ischnocera* diferem, na composição da sua alimentação, respectivamente baseada em, pele, sangue

e ponta das penas, e em penas e pele morta, metabolizada em simbiose com bactérias, incluindo bactérias *Rickettsia-like*, presentes nos malófagos, nomeadamente em células especializadas denominadas bacteriócitos ou micetócitos, e na mobilidade no hospedeiro, sendo as espécies de *Amblycera* mais móveis e de *Ischnocera* mais estáticas (Johnson & Clayton, 2003).

As características morfológicas e comportamentais dos malófagos encontram-se, extremamente bem adaptadas às particularidades dos hospedeiros, sendo possível incorporar algumas espécies em categorias baseadas na sua morfologia e na forma como escapam ao processo de *preening* (comportamento de limpeza das penas, com recurso a movimentos voluntários da cabeça/bico) (Johnson & Clayton, 2003).

#### **1.3.1.2. Ácaros**

Os ácaros, parasitas comuns de aves com pelo menos 2.500 espécies conhecidas são caracterizados pela sua reduzida dimensão (normalmente <1mm), corpo não segmentado, com inúmeros sulcos, dividido em gnatossoma e idiossoma, constituídos respectivamente por peças bucais e por 4 pares de patas, com estruturas de fixação ao hospedeiro (empódio) com diferentes formas (Proctor & Owens, 2000; Wall & Shearer, 2001). A característica fundamental para diferenciação das três ordens destes Chelicerata, tal como o próprio nome indica, é a localização dos poros respiratórios, denominados de estigmas. No caso dos Astigmata, os estigmas encontram-se ausentes, sendo a respiração feita directamente pelo tegumento; nos Mesostigmata, os estigmas estão presentes na região média do corpo, nomeadamente com um estigma, em ambos os lados, entre terceira e quarta coxa das patas posteriores; e Prostigmata com um par de estigmas presente nas proximidades do gnatossoma (Bowman, 2008a).

Considerados parasitas obrigatórios, após serem transmitidos por contacto directo entre aves, nomeadamente nos locais de nidificação entre os membros de casais, entre estes e as suas ninhadas, ou durante outro contacto social, todo o ciclo de vida ocorre nas aves, sendo normalmente constituído pelas seguintes fases de desenvolvimento: ovos, larvas compostas por 3 pares de patas, três estádios de ninfa (protoninfa, deutoninfa e tritoninfa), e ácaros adultos (Walter & Proctor, 2013).

Os ácaros considerados parasitas ubiqüitários, têm uma distribuição em grande parte correspondente à distribuição das aves. Na maioria dos casos estes parasitas apresentam alta especificidade ao nível da ordem das aves, com excepção dos

Sphenisciformes e Casuariiformes (Dabert & Mironov, 1999; Walter & Proctor, 2013). Contudo existem famílias e/ou géneros de ácaros mais abrangentes, parasitando aves filogeneticamente afastadas, possivelmente como resultado do contacto directo entre estas, desde que, possuam penas com características semelhantes, tal como Timms & Read (1999) observaram em malófagos.

Bem adaptados às aves, os ácaros têm capacidade de parasitar diferentes regiões corporais, nomeadamente: i) penas – os ácaros das penas, pertencentes maioritariamente à ordem Astigmata, alojam-se no exterior (ráquis, barbas e bárbulas), no interior da ráquis e nos folículos, alimentando-se destas e dos seus detritos, sangue e linfa; ii) pele – os ácaros da pele alojam-se em zonas subcutâneas, por vezes, formando nódulos cutâneos, alimentando-se de sangue, linfa, detritos dérmicos e secreções sebáceas; iii) vias respiratórias – os ácaros do trato respiratório, embora normalmente ocorram por associação forética com as aves, existem espécies consideradas parasitas dos pulmões. Além de parasitarem directamente as aves, os ácaros são parasitas comuns dos ninhos destas, alimentando-se de detritos dérmicos presentes no ninho e ou de sangue, durante a pernoita das aves nos ninhos (Proctor & Owens, 2000; Walter & Proctor, 2013).

### **1.3.2. Patogenia e Impacto dos ectoparasitas nas aves selvagens**

De uma forma geral, os efeitos associados a infecções/infestações ectoparasitárias são directamente proporcionais à dimensão da população de ectoparasitas presentes e divididos em efeitos directos (consequência do próprio parasita para a ave) e indirectos (consequência de eventuais agentes patogénicos transferidos às aves por parte dos parasitas) (Wall & Shearer, 2001).

De entre os efeitos directos comumente relatados em grandes infestações de malófagos, são de destacar os danos nas penas e pele, podendo resultar em prurido e dermatites, perda de apetite, redução de massa corporal e produção de ovos, alterações comportamentais, como excesso de *preening*, e anemia (Johnson & Clayton, 2003; Clayton *et al.*, 2008). Considerando estes danos e a alimentação de malófagos baseada em penas, Booth *et al.* (1993) constataram que a redução da densidade de plumagem, provoca um aumento da condutividade térmica e correspondente taxa metabólica, para manutenção da temperatura corporal constante. De modo a manter estes custos energéticos, as aves acabam por recorrer às reservas de gordura, levando à diminuição crónica da massa corporal durante meses.



Por influência directa dos malófagos que infestam penas, os machos de aves parasitadas, têm menor probabilidade de ser seleccionados pelas fêmeas durante a época de acasalamento (Clayton, 1990, 1991b; Clayton *et al.*, 2008). No caso específico de *Hirundoecus* (= *Machaerilaemus*) *malleus*, malófago responsável pela formação de pequenos orifícios nas penas da cauda de que se alimenta, preferencialmente de penas com manchas brancas, Kose *et al.* (1999), constataram que as fêmeas de *Hirundo rustica* (Andorinha-das-chaminés) seleccionam os machos com manchas brancas, uma vez que estes, quando não parasitados, exibem-nas de forma fiável. Contudo, acredita-se que estes orifícios provocados pelos malófagos, poderão ser responsáveis, pelo aumento de quebra e de permeabilidade das penas, alterando a eficiência aerodinâmica, tal como observado por Bonser (2001), em aves parasitadas por ácaros.

Indirectamente os malófagos poderão desempenhar funções de vectores ou hospedeiros intermediários, sendo responsáveis pela transmissão de outros grupos parasitários, às aves. Por exemplo, durante a alimentação de sangue, o malófago *Trinoton anserinum* transmite *Sarconema eurycera*, filariídeo parasita do miocárdio de Anseriformes (Johnson & Clayton, 2003; Clayton *et al.*, 2008). Por outro lado, malófagos da subordem Ischnocera servem de hospedeiros intermediários de *Eulimdana* spp., filariídeo do pescoço de Charadriiformes transmitido durante o processo de *preening* (Bartlett, 1993).

No caso dos ácaros, embora a maioria seja considerada comensal, algumas espécies aparentam ser capazes de se tornar patogénicas, causando directamente alterações ao nível das penas, pele, tecidos subcutâneos e trato respiratório (Zucca & Delogu, 2007a; Pence, 2008). Destas alterações são de destacar:

- i) Danos nas penas, resultantes da abertura de pequenos orifícios por parte de alguns ácaros, que segundo Bonser (2001) poderão resultar em alterações na permeabilidade das penas e aerodinâmica do voo das aves. Em penas com danos mais extensos, a sua queda é possível;
- ii) Dermatite, sarna, e inflamação granulomatosa em tecidos subcutâneos, resultantes do trauma e libertação de produtos de excreção dos ácaros. Gilardi *et al.* (2001), observaram estas lesões no corpo de *Phoebastria immutabilis* (Albatroz de Laysan) jovens, parasitadas por *Myialges nudus*, resultando na morte de algumas aves. No mesmo sentido, Pence *et al.* (1999) constataram que nos casos mais graves de infecções de *Turdus migratorius* (Tordo-americano)

por *Knemidokoptes jamaicensis*, as lesões na pele das patas eram bastante extensas, podendo resultar na perda de dígitos ou mesmo do próprio membro.

Quanto ao impacto de malófagos e ácaros ao nível populacional das aves, Pence *et al.* (1999) relataram surtos epizooticos de ácaros em populações de Passeriformes, nomeadamente *Turdus migratorius* (Tordo-americano). Já Samuel *et al.* (1982) constatarem que as populações reprodutoras de *Pelecanus erythrorhynchus* (Pelicano-de-bico-amarelo) são postas em causa, quando parasitadas por malófagos, podendo ter consequências na dimensão da população. Segundo Clayton (1991a) a sobrelotação de territórios por parte das aves, nomeadamente aves coloniais, aumenta a transmissão de ectoparasitas e o possível efeito epizootico.

### **1.3.3. Imunidade e Resistência natural a ectoparasitas**

No caso das infestações por malófagos, segundo Clayton (1991b), o método de defesa mais simples e eficaz de evitar ser parasitado, assenta na escolha de um parceiro sexual, livre de parasitas, o que poderá indicar uma possível resistência destas aves aos malófagos. Além desta maneira simplista e considerando a longa co-evolução entre aves e parasitas, as aves desenvolveram eficientes mecanismos de limpeza das penas, nomeadamente o *preening*, controlando o desenvolvimento de piolhos. Nesse sentido, eventuais alterações do bico das aves tem repercussões na eficiência deste comportamento Clayton (1991a). Além destes, outros mecanismos como o *allopreening* (acto de *preening* a outras aves), o coçar as penas com as patas, a exposição solar, os “banhos” de pó e de água e a utilização de plantas aromáticas nos ninhos, poderão controlar a população de piolhos (Clayton *et al.*, 2008).

Além dos mecanismos de resistência comportamentais, a composição química das penas, nomeadamente de melanina, quando em grande quantidade, embora não repila os malófagos, torna as penas mais resistentes à abrasão mecânica, e menos atractivas como alimento (Johnson & Clayton, 2003). Por outro lado, Dumbacher *et al.* (1992) identificaram nas penas e tecido muscular de aves do género *Pitohui*, a toxina homobatrachotoxina, membro da família da potente neurotoxina batrachotoxina, identificada em sapos do género *Phyllobates*. Anos mais tarde Dumbacher (1999) comprovou experimentalmente a alta toxicidade desses compostos químicos para os

malófagos, aumentando a taxa de mortalidade destes e tornando as penas com homobatrachotoxina na sua composição, menos atractivas como alimento.

Quanto ao papel do sistema imunitário no controlo de infestações de malófagos, Møller & Rózsa (2005) relataram uma correlação positiva entre a riqueza de géneros de malófagos da subordem Amblycera, cuja alimentação é baseada principalmente em pele e sangue, e a resposta imunitária mediada por linfócitos T, em crias altriciais, mas o mesmo não se verificou em aves adultas e na presença de malófagos da subordem Ischnocera. Posteriormente, Whiteman *et al.* (2006) observaram a existência de uma correlação negativa entre o nível de anticorpos naturais produzidos pelas populações de *Buteo galapagoensis* (Gavião-das-Galápagos) das ilhas mais pequenas e isoladas do arquipélago das Galápagos e as cargas parasitárias de *Colpocephalum turbinatum*.

Relativamente aos ácaros, poucos são os estudos de avaliação da resposta imunitária das aves quando expostos a estes ectoparasitas (Pence, 2008). De entre esses estudos, Devaney & Augustine (1988) demonstraram que a exposição de *G. gallus domesticus* (Galo-doméstico) a *Ornithonyssus sylviarum*, vulgarmente conhecido por ácaro do norte, é acompanhada pelo desenvolvimento de um anticorpo específico, resultando no decréscimo da taxa de crescimento da população de ácaros. Considerando o possível papel repelente, de compostos voláteis libertados a partir de plantas utilizadas na construção dos ninhos de *Sturnus vulgaris* (Estorninho-malhado), Gwinner *et al.* (2000), constataram que apesar destas não terem implicações na diminuição do número de ácaros, aparentam estimular o sistema imunitário, com o aumento da produção de basófilos. Estes autores sugerem a potencialidade destas plantas, mais propriamente dos seus compostos voláteis, como adjuvantes do sistema imunitário na tolerância de aves a ectoparasitas.

#### **1.3.4. Detecção de ectoparasitas**

De forma a efectuar um correcto diagnóstico de infecções/infestações ectoparasitárias, é necessário considerar as reduzidas dimensões de grande parte destes, nomeadamente dos ácaros, os possíveis locais de alojamento e as eventuais manifestações de infecção/infestação (Price *et al.*, 2003; Walter & Proctor, 2013).

No caso das infestações por malófagos, considerados parasitas sobretudo da superfície das penas, com dimensões visíveis a olho nu, a detecção dos indivíduos adultos é relativamente fácil e a sua identificação microscópica baseada nas

características morfológicas. Além destes é ainda possível detectar ovos depositados nas penas, contudo estes não permitem a identificação taxonómica dos malófagos (Zucca & Delogu, 2007a; Clayton *et al.*, 2008).

Relativamente aos ácaros, a sua detecção é dificultada pelas suas reduzidas dimensões e pelos locais que parasitam, sendo por vezes necessário adoptar técnicas mais invasivas, como a escovagem das penas e raspagem de pele, sendo esta última apenas utilizada nos casos com manifestações clínicas compatíveis com infecções por ácaros, maximizando as possibilidades de detecção e posterior identificação (Pence, 2008).

#### **1.4. Helmintes**

Os helmintes, compreendidos por parasitas pertencentes a três filos, macroscopicamente distinguidos pela forma do seu corpo, nomeadamente Nematoda, Platyhelminthes (Classe: Trematoda e Cestoda) e Acanthocephala, são considerados um grupo de parasitas bastante diversificado e comum em aves selvagens (Bowman, 2008b; Dorrestein, 2009).

Apesar da aparente distribuição cosmopolita de grande parte dos helmintes, esta encontra-se intimamente relacionada com o modo de transmissão do parasita à ave, que em inúmeros casos, é influenciada pelas condições ambientais que afectam a presença de HI, nomeadamente invertebrados (McLaughlin, 2008; Dorrestein, 2009).

A patogenicidade das infecções helmínticas em aves selvagens ainda é um tema em debate, pois embora sejam considerados agentes que põem em causa a saúde e vitalidade da ave, como enunciado por Rankin Jr. (1946), existem poucas evidências de efeitos adversos nas aves parasitadas, até porque muitas destas encontram-se com múltiplas infecções parasitárias, sendo difícil afirmar qual o helminte causal de eventuais efeitos (McLaughlin, 2008).

##### **1.4.1. Descrição dos helmintes mais representativos e respectivos ciclos de vida**

###### **1.4.1.1. Nemátodes**

Os nemátodes, facilmente distinguidos pelo seu corpo cilíndrico alongado e não segmentado, são considerados um importante grupo de helmintes de aves, se não mesmo o mais importante, por representarem um elevado número de parasitas. Esta

ampla diversidade de nemátodes contribui para uma vasta diversidade de locais de desenvolvimento dos parasitas nas aves, sendo o trato gastrointestinal o mais frequente (Zucca & Delogu, 2007b).

Os nemátodes de aves poderão apresentar ciclo de vida directo, como acontece com o género *Syngamus* (conhecido parasita da traqueia), e mais frequentemente, ciclo heteroxeno, como ocorre com grande parte dos parasitas gastrointestinais, como ocorre com o género *Contracaecum* (Anderson, 2000).

#### **1.4.1.1.1. Ascaridoidea**

A superfamília Ascaridoidea, considerada médica e economicamente importante, por compreender o género *Anisakis*, apresenta igualmente importância veterinária, por contemplar os anisquídeos *Contracaecum* (subfamília: Contracaecinae) e os ascarídeos *Porrocaecum* (subfamília: Toxocarinae) (Anderson, 2000; Fagerholm & Overstreet, 2008; Gibbons, 2010).

Caracterizado pela presença de ventrículo com apêndice ventricular posterior, ceco intestinal, verdadeiros interlábios e coroa de pregas cuticulares na margem posterior da região cefálica, o género *Contracaecum*, com uma distribuição cosmopolita, é considerado bastante comum em aves piscívoras. Ao apresentarem um ciclo de vida heteroxeno, após o desenvolvimento embrionário dos ovos na água, a larva L2, necessita de um HI, normalmente crustáceos aquáticos, para o desenvolvimento da larva L3. Estes invertebrados ao serem ingeridos por peixes, hospedeiros paraténicos (HP), levam ao enquistamento das larvas L3 na parede intestinal, mesentério, fígado e outros órgãos destes vertebrados. Por sua vez, as aves são parasitadas pela ingestão de crustáceos ou peixes, contendo as larvas L3, e já no proventrículo, moela e intestino, locais de fixação dos parasitas, estes passam por uma fase final de desenvolvimento até indivíduo adulto. Além desta forma “normal” de transmissão, acidentalmente os parasitas adultos podem ser regurgitados juntamente com alimento, e serem transmitidos entre os progenitores e as suas crias (Fagerholm, 1996; Fagerholm & Overstreet, 2008; Gibbons, 2010).

Com aparente distribuição cosmopolita, o género *Porrocaecum*, bastante comum em aves, nomeadamente por parasitar o intestino de rapinas e Passeriformes, é caracterizado pela presença de ventrículo oblongo sem apêndice ventricular, ceco intestinal e uma linha denticulada entre a região interna e externa dos lábios. O ciclo de

vida destes ascarídeos requer a presença de HI, nomeadamente oligoquetas terrestres, infectados pela ingestão de ovos embrionados presentes no solo após a libertação nas fezes das aves. As larvas L2 eclodem destes ovos, atingindo os vasos sanguíneos das oligoquetas, onde se desenvolvem em larvas L3. Normalmente as aves são parasitadas através da ingestão de oligoquetas contendo larvas nesses estádio de desenvolvimento, contudo a ingestão de micromamíferos (HP), contendo larvas L3 enquistadas no mesentério e intestino, provenientes do consumo de oligoquetas, é considerada uma forma de transmissão alternativa (Anderson, 2000; Fagerholm & Overstreet, 2008; Gibbons, 2010).

#### **1.4.1.1.2. Acuarioidea**

A superfamília Acuarioidea, compreendida por 25 géneros (família: Acuariidae), parasitas do trato gastrointestinal superior (esófago, moela e proventrículo) de aves, sobretudo associadas a ambientes aquáticos, caracterizam-se pelos seus grandes pseudolábios e por estruturas cuticulares modificadas na região cefálica, denominadas cordões. O ciclo de vida destes nemátodes, requer a presença de um HI, nomeadamente crustáceos aquáticos e artrópodes terrestres, respectivamente associados a aves destes ambientes, onde se desenvolve a larva L3, infecciosa para as aves. Uma vez nas aves, os parasitas atingem a maturidade, libertando os ovos, formas infecciosas para os HI, nas fezes das aves (Anderson, 2000; Carreno, 2008).

Os spirurídeos pertencentes à família Acuariidae são normalmente divididos em três sub-famílias, Acuariinae, Seuratiinae e Schistorophinae, sendo a primeira a mais representativa, com 15 dos 25 géneros desta família. De entre estes géneros de Acuariinae, são de destacar os géneros *Synhimantus*, *Desportesius* e *Cosmocephalus*. Embora não seja consensual, a maioria dos autores considera que o género *Synhimantus* tem dois subgéneros, nomeadamente *Synhimantus* e *Dispharynx* (Fagerholm, 1996; Şinasi *et al.*, 2010).

Os spirurídeos do subgénero *Synhimantus*, caracterizados pelos seus cordões anastomosados e pela localização da vulva na região média do corpo das fêmeas, são considerados parasitas de ampla distribuição geográfica, sendo maioritariamente relatados em aves de rapina, nomeadamente no esófago, papo, moela, proventrículo e intestinos. Dado o ciclo de vida heteroxeno, estes parasitas têm uma fase de desenvolvimento num HI, nomeadamente isópodes terrestres, onde se desenvolve a

larva L3. Mesmo considerando o consumo destes invertebrados uma forma de transmissão do parasita às aves de rapina, algumas espécies de lagartos (HP), têm sido associados a esta transmissão, uma vez que fazem parte da dieta destas aves (Anderson, 2000; Şinasi *et al.*, 2010; Perera *et al.*, 2013).

Com uma distribuição cosmopolita, os spirurídeos do subgénero *Dispharynx*, considerados parasitas comuns do proventrículo de aves terrestres, sobretudo Galiformes e Passeriformes, são caracterizados pelos seus cordões recorrentes não anastomosados e pela localização da vulva na região média do corpo das fêmeas. Com um ciclo de vida indirecto, os ovos libertados nas fezes das aves, são ingeridos por HI, nomeadamente isópodes terrestres, onde o parasita se desenvolve em larva L3. Por sua vez, as aves são parasitadas pela ingestão destes invertebrados contendo as larvas neste estágio de desenvolvimento (Anderson, 2000; Carreno, 2008).

O género *Desportesius*, parasitas comuns da moela de aves Pelecaniformes (família: Ardeidae), é caracterizado pelos seus cordões anastomosados mais largos na região posterior e pela vulva localizada na extremidade posterior das fêmeas. As aves são parasitadas pela ingestão de insectos e crustáceos aquáticos (HI), nomeadamente ostracodes e caranguejos, onde ocorre o desenvolvimento da larva L3, e vertebrados, nomeadamente peixes e girinos (HP), com larvas L3 enquistadas respectivamente no mesentério e cavidade peritoneal, possivelmente após a ingestão de HI (Anderson, 2000; Shafey, 2012).

Compreendido por parasitas do esófago de aves piscívoras, sobretudo da família Laridae, o género *Cosmocephalus*, caracteriza-se por uma região anterior com, dois pseudolábios de forma triangular e cordões anastomosados, com morfologia em forma de laço no início do segmento. A transmissão do parasita às aves depende da presença de anfípodes (HI), onde após a ingestão de ovos, ocorre o desenvolvimento do parasita até à larva L3 e peixes (HP), contendo larvas no mesmo estágio de desenvolvimento. Além desta forma de transmissão, foram relatados casos de infecção entre progenitores e as suas crias, numa colónia de nidificação de *Larus delawarensis* (Gaivota-de-bico-riscado), após regurgitação de larvas L4 e parasitas adultos juntamente com o alimento (Anderson, 2000; Mutafovchiev *et al.*, 2010).

#### 1.4.1.2. Céstodes

Facilmente distinguidos pelo escólex e estróbilo segmentado, constituído por proglotes, os céstodes, são parasitas bastante comuns de aves, com cerca de 1700 espécies conhecidas, incluídas em 3 ordens, nomeadamente Cyclophyllidea, Tetrabothriidea e Pseudophyllidea. Bem documentados ao longo da região holárctica, estes céstodes apresentam distribuição cosmopolita e a maioria aparenta ter especificidade para as ordens de aves (McLaughlin, 2008).

Com um ciclo de vida indirecto, idêntico entre espécies da mesma família de parasita, a transmissão dos céstodes às aves, hospedeiro definitivo (HD), ocorre pela ingestão de um HI, contendo as formas larvares infecciosas, contudo, para que o ciclo se complete, antes dessa ingestão pelo HD, poderá ser necessária a passagem a um segundo HI. Na ave os parasitas aparentam tropismo pelo intestino, podendo no entanto parasitar o ceco e a moela (Zucca & Delogu, 2007b; McLaughlin, 2008).

##### 1.4.1.2.1. Cyclophyllidea

Os ciclofilídeos considerados os céstodes mais representativos das aves e com maior importância veterinária, estruturalmente caracterizam-se por apresentarem: i) escólex com quatro ventosas musculares dispostas lateralmente e rostelo, por vezes retráctil, normalmente provido de ganchos, de número, forma e tamanho distintos, sendo estas duas estruturas responsáveis pela locomoção e adesão ao HD; ii) proglotes, com poro genital lateral, para a fertilização, sem poro uterino, os ovos são libertados pela lise de proglotes maduros, útero em forma sacular e glândula vitelina compacta, localizada numa região posterior ao ovário (Urquhart *et al.*, 1996; McLaughlin, 2008).

Ao serem libertados dos proglotes maduros, os ovos são eliminados nas fezes das aves para o ambiente, onde serão ingeridas pelos HI. Esta ingestão é acompanhada pela libertação da oncosfera, capaz de perfurar o intestino com recurso aos seus três pares de ganchos, migrando para o hemocélio, o celoma, ou a glândula digestiva. Aí, desenvolve-se em larva cisticercóide, tipo de larva quística microscópica infecciosa para as aves, de forma esférica e com um apêndice bucal externo, o qual contém um escólex idêntico ao do indivíduo adulto (Urquhart *et al.*, 1996; Bowman, 2008b).

Os ciclofilídeos, com excepção das famílias Gryporhynchidae e Mesocestoididae, necessitam apenas de um HI: i) crustáceos, larvas de insectos ou anelídeos, no caso de espécies parasitas de aves aquáticas; ii) insectos, anelídeos ou



moluscos no caso de espécies parasitas de aves terrestres; iii) roedores no caso dos géneros *Cladotaenia* e *Paruterina*, parasitas de aves de rapina. No caso das famílias Gryporhynchidae e Mesocestoididae, a oncosfera desenvolve-se em larva procercóide, no primeiro HI, respectivamente, copépodes e hospedeiro por identificar, que após serem ingeridas pelo segundo HI, respectivamente, peixes e anfíbios, répteis, aves ou mamíferos, desenvolvem-se em larva merocercóide, infecciosa para aves e designada de tetratiridio no caso de Mesocestoididae (McLaughlin, 2008).

#### **1.4.1.2.2. Tetrabothriidea**

Os tetrabotrídeos, considerados o grupo de céstodes filogeneticamente mais próximo dos ciclofilídeos, estruturalmente caracterizam-se por apresentarem: i) escólex sem rostelo, com quatro ventosas grandes e bem desenvolvidas em forma de folha (cada uma ocupando  $\frac{1}{4}$  do escólex), denominadas botrídeos, com as cavidades orientadas para a região anterior, facilitando a fixação ao HD; ii) proglotes, com poro genital lateral, para a fertilização, poro uterino na região dorsal, por onde são libertados os ovos, útero em forma sacular e glândula vitelina compacta, localizada numa região posterior ao ovário (Wardle *et al.*, 1974a; Andersen & Lysfjord, 1982; McLaughlin, 2008).

O ciclo de vida dos tetrabotrídeos ainda não é conhecido na sua totalidade, contudo após a eliminação dos ovos, nas fezes, para o meio aquático, a oncosfera desenvolve-se num HI, nomeadamente crustáceos marinhos, teleósteos e cefalópodes. Ao contrário dos restantes céstodes de aves, após a ingestão de HI, o escólex dos tetrabotrídeos passa por um maior período de desenvolvimento nas aves (McLaughlin, 2008).

#### **1.4.1.2.3. Pseudophyllidea**

Os pseudofilídeos, considerados um grupo polifilético de céstodes, são contemplados por uma única família de parasitas de aves, denominada Diphyllbothriidae. Estruturalmente esta caracteriza-se por: i) escólex sem rostelo, com dois bótrios (sulcos aderentes longitudinais) dispostos na região dorsal e ventral, que se tornam achatados para facilitarem a fixação ao HD; ii) proglotes, com poro genital e poro uterino na região ventral, útero em forma tubular e glândula vitelina em forma

folicular, com folículos dispostos por todo o proglote (Wardle *et al.*, 1974b; McLaughlin, 2008).

Ao serem eliminados nas fezes, os ovos de difilobotrídeos, com membrana espessa e operculados, necessitam de um período de desenvolvimento no meio aquático, até à libertação de uma larva capacitada a nadar, com aspecto de uma oncosfera rodeada por cílios, denominada coracídio. Este ao ser ingerido por copépodes, penetra o seu intestino e no hemocélio desenvolvem-se em larva procercóide. Necessitando de outro HI para o seu desenvolvimento, estes crustáceos ao serem ingeridos por peixes, libertam a larva procercóide no intestino destes vertebrados. Esta tem a capacidade de migrar para a cavidade corporal, órgãos viscerais e músculos dos peixes, onde se desenvolvem em larva plerocercóide, infecciosa para as aves (Bowman, 2008b; McLaughlin, 2008).

#### **1.4.1.3. Tremátodes**

Os tremátodes digenéticos (sub-classe: Digenea), com 536 espécies conhecidas por parasitarem aves, nomeadamente aves com hábitos aquáticos, têm uma especificidade irregular para hospedeiros, havendo espécies a ocorrer, de forma mais restrita ou numa ampla diversidade de hospedeiros (Huffman, 2008).

Com um ciclo de vida heteroxeno, o desenvolvimento assexuado dos tremátodes decorre em dois HI, nomeadamente caracóis aquáticos inicialmente, e posteriormente em caracóis aquáticos, anfíbios ou peixes. As aves, HD, são parasitadas após a ingestão metacercárias enquistadas na vegetação. Na ave, os tremátodes desenvolvem-se principalmente no intestino, contudo, cloaca, sacos aéreos, pele, fígado e rins, são possíveis locais de alojamento (Zucca & Delogu, 2007b; Huffman, 2008).

#### **1.4.1.4. Acantocéfalos**

Com distribuição cosmopolita, o filo Acanthocephala com aproximadamente 400 espécies conhecidas por parasitarem aves, principalmente Anseriformes, aparentam ser restritos a algumas ordens de aves. Conhecidos como “helmintes de cabeça espinhosa”, graças à sua probóscide retráctil com espinhos curvos, estes parasitas encontram-se notavelmente bem adaptados a um estilo de vida exclusivamente intestinal, com ausência de boca e sistema digestivo, fixando-se firmemente à mucosa

intestinal e absorvendo nutrientes directamente pelo seu tegumento (Taylor *et al.*, 2007a; Richardson & Nickol, 2008).

Com um ciclo de vida indirecto, as aves, consideradas HD, normalmente são infectadas pela ingestão de invertebrados (HI), terrestres, nomeadamente insectos terrestres das ordens Coleoptera e Orthoptera, ou aquáticos das ordens Amphipoda e Isopoda, contendo as formas infecciosas, cistacantos. Contudo, caso os invertebrados infectados, sejam ingeridos por outros vertebrados, como peixes, anfíbios e répteis, os cistacantos enquistam em órgãos viscerais, tornando estes vertebrados HP (Schmidt, 1985; Bowman, 2008b).

#### **1.4.2. Patogenia e Impacto dos helmintes nas aves selvagens**

De uma forma geral os sinais clínicos associados a infecções helmínticas em aves, são inespecíficos (debilidade, magreza, diarreia, pequena hemorragia, alterações de postura, de locomoção e de comportamento alimentar) ou mesmo inexistentes, tornando deficitária a percepção atempada destas infecções parasitárias. Considerando estas aves como saudáveis, por vezes, só após a sua morte é possível verificar a ampla diversidade de helmintes com que se encontravam parasitadas, contudo este facto impossibilita a possível atribuição de causalidade a um agente específico (Huffman, 2008; McLaughlin, 2008).

A patologia associada a infecções helmínticas é de difícil aferição, havendo variações entre os diferentes grupos de parasitas, no entanto apresentam um ponto em comum, as alterações patológicas mais recorrentes correspondem à inflamação do local de contacto parasita-hospedeiro. Nos diferentes grupos de helmintes, são de destacar as seguintes patologias:

- i) Nemátodes – as infecções parecem ser acompanhadas por algumas alterações patológicas, sendo a lesão mais comum no caso de infecções por *Contracaecum* spp., o aparecimento de úlceras na mucosa proventricular e/ou esofágica, com possíveis focos necróticos. Nos casos mais graves, mas menos comuns, é possível o desenvolvimento de peritonite ou infecções bacterianas em órgãos vitais, que se poderão resultar na morte da ave (Deardorff & Overstreet, 1980; Greve *et al.*, 1986). No caso de infecções de *Synhimantus (Dispharynx) nasuta*, espécie mais patogénica deste subgénero, no local de fixação do parasita ao proventrículo, observa-se uma resposta inflamatória, acompanhada por

ulceração, espessamento da mucosa, obstrução do trato digestivo e destruição de glândulas proventriculares, que poderão resultar na morte das aves (Schulman *et al.*, 1992; Carreno, 2008).

- ii) Céstodes – salvo raras exceções, as aves parasitadas desenvolvem-se normalmente, não apresentando patologia associada (Zucca & Delogu, 2007b; McLaughlin, 2008). Além da inflamação Jones *et al.* (1996) verificaram que, abetardas parasitadas por ciclofilídeos apresentavam mucosa intestinal ligeiramente atrofiada com sinais de fibrose. Nos casos de infecções graves, foi ainda visível a obstrução do lúmen intestinal, potencialmente fatal. Apesar da ocorrência de casos de mortais, com responsabilidade atribuída a tetrabotrídeos, pouco se conhece sobre os sinais clínicos e possíveis efeitos patogénicos destes céstodes (McLaughlin, 2008).
- iii) Tremátodes – a patologia associada a estas infecções é residual, contudo quando ocorre, encontra-se directamente associada ao local de desenvolvimento do parasita, manifestando-se por enterite ulcerativa hemorrágica, no caso de tremátodes gastrointestinais, ou por distrofia do fígado, no caso de tremátodes hepáticos (Zucca & Delogu, 2007b; Huffman, 2008).
- iv) Acantocéfalos – normalmente as aves não apresentam lesões associadas, sendo a formação de nódulos fibrosos no local de fixação da probóscide, a única lesão observada (Taylor *et al.*, 2007a; Richardson & Nickol, 2008).

Apesar dos possíveis efeitos adversos nas aves parasitadas por helmintes, o seu impacto na dinâmica populacional das aves é de difícil aferição, não apenas pela variável, patogenicidade dos helmintes e susceptibilidade das aves, mas essencialmente pela, ausência de sinais clínicos nas aves parasitadas, que dificulta a detecção de casos positivos, e pela constante detecção de infecções parasitárias mistas em aves mortas. Assim torna-se difícil a atribuição de causa etiológica a algumas infecções parasitárias mortais (Carreno, 2008; Huffman, 2008; McLaughlin, 2008).

#### **1.4.3. Imunidade e Resistência natural a helmintes**

Tendo em conta a escassez de estudos relativos à imunidade e resistência de aves aos vários grupos de helmintes e sendo a maioria baseados nos grupos de parasitas

aparentemente mais patogénicos, pouco se conhece sobre a resposta do sistema imunitário destes vertebrados aos helmintes. Apesar disto, aparentemente a imunidade inata desempenha um papel fundamental na resistência a infecções helmínticas, graças à longa co-evolução hospedeiro parasita, sendo um factor preponderante na susceptibilidade das aves aos helmintes, tornando-as, susceptíveis ou resistentes às infecções e contribuindo para a possível especificidade dos parasitas para algumas ordens ou famílias de aves. Contudo em alguns casos a imunidade adquirida também poderá responder a estas infecções (Taylor *et al.*, 2007b).

No caso de infecções por nemátodes, como por exemplo por *Contracaecum* spp., Humphrey *et al.* (1978) sugerem que a imunidade inata, nomeadamente a imunidade da idade/crescimento, desempenha um papel fundamental na infecção de *Pelecanus occidentalis* (Pelicano-pardo), havendo um decréscimo da prevalência e intensidade da infecção com a idade, entre crias de ninho e aves jovens. Isto aparenta ocorrer pelas mudanças na dieta, tornando as aves jovens, que se encontram em fase de aprendizagem, a seleccionarem o seu próprio alimento, que poderá ser pouco diversificado. Além da imunidade da idade, no caso de infecções por *Synhimantus* (*Dispharynx*) *nasuta*, a susceptibilidade à infecção, aparenta depender das aves em causa (Carreno, 2008).

Apesar do relativo desconhecimento sobre a imunidade em aves parasitadas por céstodes, aparentemente estas não desenvolvem uma resposta imunitária eficaz contra infecções primárias e secundárias (McLaughlin, 2008). Por outro lado, aves parasitadas por tremátodes, nomeadamente *Sphaeridiotrema globulus*, aparentam adquirir resistência à reinfecção, sendo segundo Mucha & Huffman (1991) mediada por células.

#### **1.4.4. Detecção dos helmintes**

Normalmente o diagnóstico de infecções helmínticas em aves, é baseado na identificação de ovos nas fezes, utilizando diferentes técnicas coprológicas qualitativas, nomeadamente técnica de flutuação fecal, para determinação de ovos de nemátodes e ovos e/ou proglotes de céstodes, e técnica de sedimentação, para detecção de ovos de tremátodes e alguns céstodes. Considerando a morfologia e dimensão características dos ovos, os resultados destas técnicas permitem um diagnóstico pouco específico, sendo a identificação ao nível da espécie praticamente impossível. Juntando isto, ao facto de as técnicas de coprologia parasitária apenas serem úteis para parasitas em período patente,

isto é, período de eliminação das formas parasitárias nas fezes, tornam deficitária a especificidade e sensibilidade destas técnicas, podendo a última ser minimizada, através da realização de mais do que um teste replicado à mesma ave (Fernández *et al.*, 1999).

A forma de diagnóstico, mais precisa e eficaz na identificação dos helmintes ao nível da espécie, sem recurso a técnicas dispendiosas e pouco comuns neste grupo de parasitas, como a PCR, é feita durante o exame *pos-mortem* das aves e baseia-se nas características morfológicas e morfométricas dos helmintes adultos encontrados (Zajac *et al.*, 2012).

### **1.5. Objectivos**

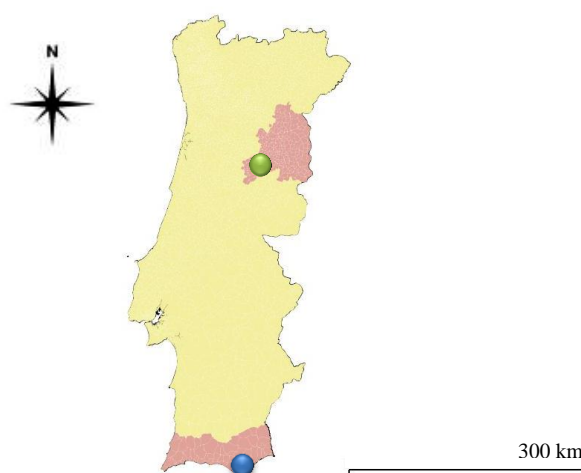
Este estudo teve como principais objectivos:

- i) Detectar e identificar, sempre que possível ao nível da espécie, hemoparasitas, ectoparasitas e helmintes parasitas de aves selvagens;
- ii) Determinar a prevalência dos diferentes parasitas identificados nas aves;
- iii) Determinar a influência de diversos factores como a região geográfica da recolha das amostras, a ordem, a idade, a fenologia e a conduta social das aves, na prevalência do parasitismo;
- iv) Contribuir para o conhecimento do parasitismo de aves selvagens que ocorrem em território nacional e o seu possível impacto na Saúde Pública.

## 2. Metodologia

### 2.1. Material e Métodos

No período que decorreu entre os meses de Setembro e Dezembro de 2013 foram recolhidas amostras biológicas de 83 aves selvagens, alojadas em dois centros de recuperação de animais selvagens, integrados na Rede Nacional de Centros de Recuperação para a Fauna, coordenada pelo Instituto da Conservação da Natureza e das Florestas (ICNF) e regulamentada pela portaria nº 1112/2009, de 28 de Setembro, nomeadamente no RIAS e no CERVAS, sediados respectivamente no Parque Natural da Ria Formosa (PNRF) e no Parque Natural da Serra da Estrela (PNSE). Além das amostras procedentes dos centros de recuperação, foram recolhidas amostras de 59 aves capturadas em sessões de anilhagem científica realizadas por Thijs Valkenburg, anilhador credenciado (Nº229) pelo Centro de Estudos de Migrações e Protecção de Aves (CEMPA)/Central Nacional de Anilhagem, decorridas no primeiro local acima mencionado (Figura 6).



**Figura 6 – Mapa de Portugal Continental com a localização exacta dos locais de amostragem.** RIAS e anilhagem científica (●) e CERVAS (●). Mapa gerado por QGIS 2.4.0 Chugiak (Quantum GIS Development Team, 2014).

### 2.2. Caracterização das áreas geográficas em estudo respectivo clima

Considerando as localizações dos Centros de Recuperação e das sessões de anilhagem envolvidos na amostragem, este estudo envolveu duas regiões de Portugal

Continental: a Região Sul, onde se insere o PNRF e a Região Centro-Norte onde se localiza o Parque Natural da Serra da Estrela.

### **2.2.1. Parque Natural da Ria Formosa**

Localizado no concelho de Olhão, em pleno PNRF, o RIAS (Latitude:37°2'4.55"N/Longitude:7°48'46.79"O) é o único centro de recuperação em funcionamento na região Sul de Portugal Continental, admitindo não apenas animais dos 16 concelhos algarvios, mas também de concelhos do Baixo-Alentejo (RIAS 2013).

Dada a sua extensão e complexidade estrutural admirável, constituída por um conjunto de habitats terrestres e lagunares, como, penínsulas, ilhas, sapais, lagoas de água doce e salobra, salinas, extensos bancos de areia, dunas, cursos de água, zonas agrícolas e pinhais, nos quais assenta toda a riqueza biológica da área, o Algarve, mais propriamente a Ria Formosa, é considerada a zona húmida mais importante do Sul do país (Parque Natural da Ria Formosa, 2007a).

Além da diversidade de habitats, a região do Algarve é conhecida pelas suas condições climáticas, próprias de uma região de clima temperado mediterrânico, de características semiáridas, com uma extensa estação seca e quente, durante os meses de Verão, e um Inverno ameno, com escassa precipitação, fundamentalmente devido às influências das massas de ar tropical provenientes da zona Oeste do Oceano Atlântico e do Norte de África e à extensa distância das influências das massas de ar polar da Europa Setentrional (Instituto de Meteorologia de Portugal & Agência Estatal de Meteorologia de Espanha, 2011).

Por possuir características naturais e climáticas únicas, como as descritas anteriormente, e uma localização geográfica estratégica, o Algarve, é considerado uma área de relevância nacional e internacional, no que respeita à avifauna, uma vez que para além de ser uma importante zona de nidificação de inúmeras aves, sobretudo aquáticas, algumas mesmo consideradas raras ou pouco comuns, como é o caso do Caimão (*Porphyrio porphyrio*), serve de local de invernada a cerca de 30.000 aves do Norte da Europa e constitui um local de passagem da avifauna paleártica durante os seus movimentos migratórios entre os continentes europeu e africano (Parque Natural da Ria Formosa, 2007b).

Dada a sua importância, em 1987, foi atribuído o estatuto de Parque Natural à Ria Formosa e para além desse estatuto, a região encontra-se integrada: na Rede Natura



2000, com Zona de Protecção Especial (PTZPE0017), ao abrigo da Directiva Aves, e como Sítio de Importância Comunitária (PTCON0013), associado à Directiva Habitats, na lista de zonas húmidas de importância internacional da Convenção de Ramsar (3PT002) e na lista de áreas com importância para aves (PT033), identificadas pela BirdLife International (BirdLife International, 2014b).

### **2.2.2. Parque Natural da Serra da Estrela**

O CERVAS (Latitude:40°30'09.7"N/Longitude:7°34'34.9"O), sediado em Gouveia, em área abrangida pelo PNSE, é o centro de recuperação de animais selvagens de excelência em funcionamento na Região Centro de Portugal Continental, recebendo animais dos 6 distritos abrangidos por esta região e por distritos pertencentes à Região Centro e Norte do país (CERVAS, 2013).

Ocupando uma área de média e alta montanha, o PNSE, caracterizado pela sucessão de planaltos alongados, onde se inclui o Planalto da Torre (ponto mais elevado do território de Portugal Continental, com 1993 metros de altitude), pelo relevo acidentado, pelos inúmeros vales, pelas diversas formas de cenários aquáticos (lagoas naturais, nascentes de rios e ribeiras e charcos temporárias) e pela diversidade de vegetação, a área da Serra da Estrela compõe os melhores testemunhos de uma paisagem glaciária a nível nacional (Recurso Lda, 2008).

Por se encontrar numa região de transição entre climas (a Sul, pelo clima temperado mediterrânico, a Oeste, pelo clima temperado mediterrânico com influência oceânica, a Norte e Este, pelo clima mediterrânico com influência continental), pela relativa proximidade com o Oceano Atlântico, pela elevada altitude e pela grande massa, a Serra da Estrela, apresenta um clima muito próprio com padrões de distribuição de temperatura e de precipitação muito complexos. Denominado de clima temperado mediterrânico com influência de altitude, a Serra da Estrela, apresenta Verões quentes e secos e Invernos frios e húmidos, com precipitação e queda de neve frequentes entre os meses de Dezembro e Março (Instituto de Meteorologia de Portugal & Agência Estatal de Meteorologia de Espanha, 2011).

A singularidade das características naturais da Serra da Estrela, como as descritas anteriormente, aliadas à localização geográfica, à actividade humana existente, principalmente agrícola e pastorícia, e ao clima, resultam numa variedade de habitats, utilizados: como local de invernada para algumas aves, com destaque para as espécies

associadas a habitats de grande altitude e pouco comuns no resto do país, nomeadamente a Ferreirinha-alpina (*Prunella collaris*), o Tentilhão-montês (*Fringilla montifringella*) e o Melro-de-peito-branco (*Turdus torquatus*), como local de nidificação para um elevado número de aves e como local de passagem de aves, sobretudo Passeriformes, durante os movimentos migratórios entre o Norte da Europa e África (Recurso Lda, 2008).

Com estatuto de Parque Natural desde 1987, a Serra da Estrela, graças à sua importância nacional e internacional, encontra-se protegida: pela Rede Natura 2000, como Sítio com Importância Comunitária (PTCON0014), ao abrigo da Directiva Habitats, pela lista de zonas húmidas de importância internacional da Convenção de Ramsar (3PT014), pela lista de áreas com importância para aves (PT038), identificadas pela BirdLife International, e pelo estatuto de Reserva Biogenética, atribuída pelo Conselho da Europa (BirdLife International, 2014c).

### **2.3. Caracterização da amostra**

Durante o período de amostragem, todas aves, sem excepção, admitidas nos Centros de Recuperação de Animais Selvagens e capturadas em sessões de anilhagem, foram avaliadas para a presença de hemoparasitas ( $n=128$ ), ectoparasitas ( $n=122$ ) e helmintes ( $n=22$ ), sendo que no total foram avaliadas 142 aves selvagens.

Para cada ave amostrada, foram registados: a espécie e respectiva ordem, a idade, o sexo, o centro de recuperação de proveniência e o concelho de recolha da ave (i.e. no caso de aves que ingressaram em centros de recuperação, local onde foram encontradas, e no caso de aves anilhadas, local de anilhagem)

### **2.4. Colheita das amostras**

#### **2.4.1. Colheita de sangue periférico**

Durante o seu ingresso nos centros de recuperação ou nas 48 horas posteriores, as aves, foram retiradas das suas caixas de transporte individuais ou das câmaras de recuperação interiores utilizando a técnica de *body grab*, recorrendo a uma toalha para cobrir a ave e sempre que necessário, a uma rede (Bailey, 2007). Posteriormente as aves foram colocadas em decúbito dorsal sob a mesa de exploração, sendo manipuladas sob

contenção física e visão obstruída por uma toalha, minimizando os efeitos do *stress* de manipulação. Cada ave foi sujeita à recolha de uma pequena quantidade de sangue, aproximadamente 1mL, com recurso a seringas de 1 ou 2,5mL (KRUUSE® Disposable syringe) e agulhas hipodérmicas de 25 gauge (0,5x16 mm) (BD Microlance™). A colheita das amostras de sangue foi efectuada a partir de diferentes veias, nomeadamente da veia ulnar superficial, veia metatarsal medial e veia braquial, sendo esta escolha dependente do tamanho da ave, da sua condição física e das particularidades anatómicas da espécie em causa (Campbell, 1995; Sheldon *et al.*, 2008).

No decorrer de sessões de anilhagem científica de aves selvagens, nomeadamente de Passeriformes e de aves limícolas, com duração aproximada de 5 horas, as aves foram capturadas em redes anilhagem apropriadas, individualizadas em sacos adequados, de forma a minimizar os efeitos do *stress* de transporte desde local captura até ao local da anilhagem (Bairlein *et al.*, 1995). Para além da anilhagem, de acordo com a metodologia seguida pelo ICNF, cada ave foi sujeita à recolha de uma pequena quantidade de sangue efectuada a partir da veia braquial, com recurso a agulhas hipodérmicas de 25 gauge (0,5x16 mm) e tubos capilares de microhematócrito sem heparina (75mm/75µl) (Hirschmann® Laborgeräte GmbH & Co. KG) (Sheldon *et al.*, 2008).

O sangue recolhido foi utilizado para realizar dois esfregaços sanguíneos por escorregamento e o restante transferido para um tubo de colecta de 1mL contendo agente anticoagulante EDTA (Valve stopper K3E, AQUISEL®). Os tubos foram identificados com o número da amostra, o nome científico da espécie e data da colheita, e mantidos em refrigeração (4-5°C), por um período máximo de 48 horas.

#### **2.4.2. Colheita de ectoparasitas**

Durante a manipulação das aves selvagens, no momento do seu ingresso no RIAS, e no momento da anilhagem, sob contenção física e visão obstruída por uma toalha, as aves foram examinadas cuidadosamente quanto à presença de ectoparasitas, tendo especial atenção, no caso de ixodídeos à região frontal do crânio, nomeadamente às zonas, periocular, periauricular, cera e bico, e no caso de piolhos às penas, nomeadamente às penas de cobertura, abdominais, peitorais, da cabeça, pescoço e das asas, e às penas de voo, locais com grande incidência destes parasitas (Silva *et al.*, 2006;

Clayton *et al.*, 2008). Os ectoparasitas recolhidos foram colectados e posteriormente conservados em tubos *Eppendorf* contendo Etanol a 70% glicerinado a 2%, devidamente identificadas com o número da amostra, o nome científico da espécie e data da colheita, até à sua observação.

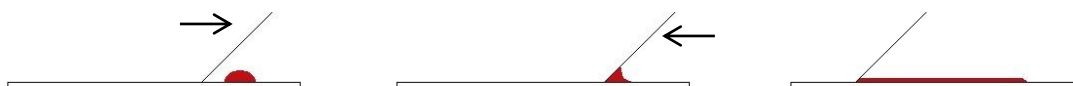
#### **2.4.3. Colheita de helmintes**

As aves que morreram no decorrer das campanhas de amostragem, no RIAS, foram posteriormente (no máximo 48 horas após a morte) submetidas a necrópsia, com o intuito de recolher possíveis parasitas, nomeadamente helmintes, existentes nos diferentes órgãos, mas dando especial atenção aos órgãos do sistema digestivo.

### **2.5. Processamento das amostras**

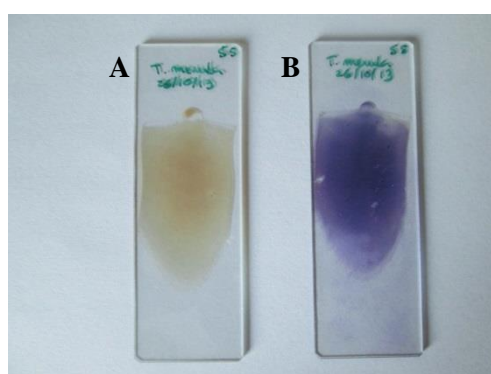
#### **2.5.1. Preparação, fixação e coloração do esfregaço sanguíneo**

Imediatamente após a colheita de sangue, foram realizados dois esfregaços sanguíneos por animal, utilizando a técnica do escorregamento, também conhecida por técnica do esfregaço em cunha (*wedge smear technique*) (Figura 7). Para esta técnica foram utilizadas uma lâmina de bordos biselados (76x26 mm) (Hirschmann® Laborgeräte GmbH & Co. KG), onde foi colocada numa das extremidades a gota de sangue, e uma lamela (22x22 mm) (Hirschmann® Laborgeräte GmbH & Co. KG), responsável pela sua extensão. A lamela foi colocada num ângulo de aproximadamente 45° e movida ligeiramente para trás até tocar na gota de sangue, espalhando-a no seu bordo, e com um movimento contínuo e suave para a frente, a gota foi estendida, formando uma zona de monocamada, onde os constituintes sanguíneos se encontram definidos e próximos, mas não sobrepostos, maximizando a sua observação por campo óptico (Clark *et al.*, 2009). Antes da realização do esfregaço, todas as lâminas foram devidamente identificadas com o número da amostra, o nome científico da espécie e data da colheita.



**Figura 7 – Representação esquemática da técnica do esfregaço em cunha.** Movimento necessário aplicar na lamela (setas) para a realização do esfregaço. (Original)

Após a primeira fixação, correspondendo à secagem do esfregaço ao ar, os esfregaços sanguíneos foram corados utilizando a coloração *Giemsa* (Figura 8), seguindo o protocolo utilizado no Laboratório de Parasitologia e Doenças Parasitárias da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa (Anexo III), que consiste em submeter o esfregaço, a metanol, responsável pela segunda fixação, e ao corante *Giemsa*, que por ser um agente neutro, é responsável por corar os componentes ácidos e básicos do sangue, nomeadamente componentes nucleares e citoplasmáticos das células e eventuais parasitas (Clark *et al.*, 2009).



**Figura 8 – Esfregaço sanguíneo de ave, antes (A) e após (B) a coloração *Wright Giemsa*.** (Original)

### 2.5.2. Preparação das amostras de ectoparasitas

Para a preparação das amostras de malófagos recorreu-se à Técnica de Bálsamo do Canadá (Anexo IV), utilizada há décadas por entomologistas pois proporciona bons resultados e preserva a amostra a longo prazo (Palma, 1978). Esta técnica implicou a realização de uma sequência de procedimentos, por vezes morosos, iniciada com a selecção dos espécimes a preparar, dando sempre preferência a exemplares em bom estado.

Os espécimes seleccionados foram então submetidos a um processo de maceração dos tecidos moles, não quitinosos e descoloração da esclerotina e distensão do corpo, composto pela adição de solução aquosa de hidróxido de potássio a 20%, durante um período de tempo variável, directamente proporcional ao tamanho e pigmentação dos exemplares. Isto permitiu não apenas a eliminação de todos os órgãos internos, mas também conferir transparência aos espécimes, possibilitando a observação das características anatómicas que os distinguem.

Concluído o tratamento anterior, o hidróxido de potássio foi removido e substituído por água, de forma a limpar eventuais órgãos ainda no interior do exosqueleto dos malófagos. Findo esse tempo a água foi substituída por solução aquosa de ácido acético a 10 %, sendo esta responsável pela neutralização da alcalinidade de possíveis restos da maceração da amostra, evitando eventuais danos provocados pelo excessivo tempo de actuação de hidróxido de potássio.

Após a neutralização, as amostras foram expostas a solução aquosa de fucsina ácida altamente concentrada, de modo a corar, principalmente, as partes do exosqueleto essenciais para o estudo taxonómico das espécies. Posteriormente, os espécimes corados foram desidratados, pela adição de forma gradual de etanol com diferentes concentrações, no sentido de remover o excesso de corante existente no interior do exosqueleto.

Concluída a desidratação dos espécimes, foi-lhes aplicado óleo de cravo puro, até ficarem submersos, permitindo-lhes adquirir a transparência ideal, mantida aquando da aplicação do meio de montagem.

Neste momento, com os espécimes já devidamente tratados e as lâminas identificadas como demonstra a Figura 9, os malófagos foram colocados sobre a lâmina correspondente, e aplicado o meio de montagem, neste caso meio de Hoyer (dada a inexistência de Bálsamo do Canadá), uma vez que também apresenta resultados igualmente satisfatórios para os ectoparasitas em causa. Concluída a montagem definitiva dos espécimes, de forma a garantir a secagem do meio de montagem, as lâminas foram colocadas na estufa a 50°C durante três semanas, estando prontas para observar findo esse tempo.



**Figura 9 – Forma de identificação das lâminas com exemplares de malófagos.**  
(Original)

Mesmo não tendo sido elaborada metodologia específica para a pesquisa de ácaros, quando estes foram observados, foram colocados entre lâmina e lamela e durante aproximadamente 72 horas, imersos em Lactofenol (Merck® R03266-74), meio diafanizador da amostra. Posteriormente, para prevenir eventuais perdas de espécimes, os ácaros foram retirados do meio clarificador, colocados entre lâmina e lamela e montado definitivamente em meio de Hoyer (Anexo V), sendo necessário cerca de uma semana de secagem à temperatura ambiente, para a sua observação. Considerando os ácaros, ectoparasitas de reduzida dimensão e elevada sensibilidade, para a realização, em segurança, dos processos de manuseamento acima mencionados, recorreu-se a um microscópio estereoscópio binocular Olympus SZ51.

No caso de amostras de coleópteros, mesmo não tendo sido elaborada nenhuma metodologia para a sua pesquisa, até à data, a sua identificação, não requereu nenhuma metodologia de preparação, simplesmente foram montadas entre lâmina e lamela.

### 2.5.3. Preparação das amostras de helmintes

Imediatamente após a recolha, os helmintes, com excepção dos nemátodes para microscopia electrónica, foram colocados em água destilada, de forma a limpar eventuais detritos, e caso se encontrassem vivos, colocados no frigorífico, até à sua morte para progressivo relaxamento da musculatura (Amato & Amato, 2010). Os helmintes para observação ao microscópio óptico foram conservados individualmente, até à sua observação, em tubos contendo Etanol a 70% glicerinado a 2%, devidamente identificados com o número da amostra, o nome científico da espécie, a data da colheita, e o órgão onde foi encontrado.

Após a morte, os céstodes, para microscopia electrónica, foram fixados com mistura A.F.A. (etanol 70%, formaldeído 37% e ácido acético puro) (Anexo VI), de

forma a impedir a decomposição de tecidos e consequente preservação da estrutura celular. O mesmo procedimento foi aplicado aos nemátodes, contudo a mistura A.F.A. foi aplicada a quente sobre espécimes vivos. Após a fixação, os helmintes foram conservados do mesmo modo que os helmintes destinados a microscopia óptica (Amato & Amato, 2010).

Nas 72 horas que antecederam a observação de helmintes ao microscópio óptico binocular, os nemátodes e segmentos de céstodes, foram devidamente colocados entre lâmina e lamela e expostos a Lactofenol, tendo este funcionado como meio diafanizador da amostra, permitindo a identificação dos helmintes segundo os caracteres esclerotinizados.

No que respeita às amostras para observação ao microscópio electrónico de varrimento (MEV), anteriormente fixadas com A.F.A., foram sujeitas a uma rigorosa metodologia de preparação (Anexo VII), iniciada por desidratação com etanol, misturas de etanol-acetona (com concentração gradual de acetona) e acetona, secagem com CO<sub>2</sub> através do ponto crítico, de forma a substituir o etanol presente na amostra, montagem sobre fita-cola de dupla-face em suporte metálico de pionés e metalização com ouro num equipamento JEOL JFC-1200, de forma a aumentar a opacidade da amostra aos electrões, para que a detecção seja optimizada, permitindo a obtenção de uma imagem com o máximo de resolução possível (Salema & Santos, 1992).

## **2.6. Identificação dos géneros parasitários**

No que respeita à identificação dos hemoparasitas, esta foi feita por observação dos esfregaços sanguíneos ao microscópio óptico binocular Olympus BX51. A pesquisa de hemoparasitas foi feita nas ampliações de  $\times 400$  e  $\times 1000$ , observando a área de monocamada do esfregaço e as áreas imediatamente adjacentes, de modo a garantir, que todas as lâminas eram observadas com o mesmo rigor e segundo a mesma área. Os géneros parasitários em estudo, foram identificados de acordo com Valkiūnas (2005), Peirce (2007) e Clark *et al.* (2009), e sempre que necessário foram registados fotograficamente, com câmara digital (Olympus DP50 color) acoplada ao microscópio acima indicado e com o *software* de aquisição de imagem Studio Lite® Version 1.0 (© Pixera Corporation 1998 – 2000).

A identificação dos ectoparasitas foi realizada por observação das características morfológicas que os distinguem taxonomicamente, na ampliação  $\times 40$ , no caso de



malófagos e coleóptero, e  $\times 100$ ,  $\times 200$  e  $\times 400$  no caso do ácaro, ao microscópio óptico binocular Olympus BX40. No caso dos malófagos, a identificação ao nível dos géneros foi feita de acordo com Price *et al.* (2003), e ao nível da espécie foi feita seguindo artigos com chaves dicotómicas dos géneros identificados, em cooperação com o entomólogo Ricardo L. Palma; no caso do ácaro, a identificação ao nível da espécie foi feita de acordo com Vasyukova & Mironov (1991) e confirmada pelo zoólogo Sergey V. Mironov; no caso do coleóptero a identificação ao nível da espécie ainda decorre pelo entomólogo Mário Boieiro. Sempre que necessário imagens dos ectoparasitas foram registadas fotograficamente, com câmara digital Olympus DP10 acoplada ao microscópio acima indicado.

A maioria dos helmintes foram identificados por observação ao microscópio óptico binocular Olympus BX40 das características morfológicas e morfométricas que os distinguem taxonomicamente, na ampliação mais apropriada ( $\times 100$ ,  $\times 200$  e  $\times 400$ ), e sempre que necessário foram registados fotograficamente, com câmara digital Olympus DP10 acoplada ao microscópio acima indicado. Contudo dada a dificuldade de identificação de alguns exemplares por microscopia óptica, estes foram identificados por observação ao microscópio electrónico de varrimento JEOL JSM-5200LV, com aquisição de imagem digital. No caso dos helmintes, devido à escassez de bibliografia, a identificação foi feita maioritariamente ao nível do género, com base em estudos de prevalência referentes ao hospedeiro aviário em causa, comparando as características dos parasitas enunciados e os observados. As amostras identificadas ao nível da espécie foram efectuadas por comparações morfométricas entre determinadas estruturas características, enunciadas na bibliografia e nos helmintes observados.

## **2.7. Análise estatística**

Os dados obtidos foram registados e armazenados no programa Microsoft® Excel® 2010 (© Microsoft Corporation) e a análise de estatística descritiva realizada recorrendo à plataforma de cálculo IBM® SPSS® Statistics Version 20.0 (© IBM Corporation).

No caso das variáveis qualitativas foi realizado o comando *Frequencies*, para obtenção de frequências absolutas e percentuais, das diferentes categorias estudadas. Para o estudo de associações estatísticas entre variáveis qualitativas, foram realizadas tabelas de contingências, comando *Crosstabs*, utilizando o Teste de Qui-Quadrado ( $\chi^2$ )

de Pearson, com nível de significância assumido de  $p < 0,05$ , para um intervalo de confiança de 95%.

Considerando que o Teste de Qui-Quadrado aplica-se a uma amostra em que a variável nominal tem duas ou mais categorias, onde são comparadas as frequências observadas com as frequências esperadas, para avaliar a relação existente entre as variáveis, o *p-value* assumido diferiu consoante o tipo de tabela de contingência: i) tabelas de contingência  $2 \times n$  (sendo  $n \geq 2$ ), com menos de 25% das células de frequências esperadas, com valor inferior a 5, foi assumido o valor assintótico de *p-value* (coluna *Asymp. sig. (2-sided)*); ii) tabelas de contingência  $2 \times 2$ , com mais de 25% (25% incluído) das células de frequências esperadas, com valor inferior a 5, foi assumido o valor exacto de *p-value* (coluna *Exact sig. (1-sided)*); iii) tabelas de contingência  $2 \times n$  (sendo  $n > 2$ ), com mais de 25% das células de frequências esperadas (25% incluído), com valor inferior a 5, foi assumido o valor exacto de *p-value* (coluna *Exact sig. (2-sided)*).

O Teste de *Qui-Quadrado* foi aplicado às variáveis:

- i) Ordem – as aves foram grupadas consoante a ordem a que pertencem;
- ii) Idade – as aves foram agrupadas em 2 classes, consoante a sua maturidade sexual: jovens (animais antes da idade reprodutiva, ou seja, aves juvenis e sub-adultas) e adultos (animais em idade reprodutiva), de forma a obter uma melhor informação estatística. Aves identificadas com idade indeterminada foram excluídas para a análise estatística da relação entre a prevalência de parasitas e a idade das aves;
- iii) Local de proveniência – as aves foram agrupadas consoante o local de proveniência, ou seja, RIAS, CERVAS e anilhagem científica;
- iv) Região de proveniência – as aves foram agrupadas em 2 grupos, aves provenientes da região Sul e região Norte;
- v) Fenologia – baseada nos movimentos comuns das aves em Portugal (Tabela 2), as aves foram classificadas como Residentes (aves tendencialmente residentes), Migradoras de longa distância (aves com longos movimentos migratórios nomeadamente entre o Europa Setentrional e Ocidental, e África Subsaariana), Migradoras de curta distância (aves com pequenos movimentos migratórios nomeadamente entre o Centro da Europa e região mediterrânica, incluindo o

Norte de África) e Residentes/Migradoras (aves que em Portugal, poderão ocorrer com um dos dois tipos de fenologia);

- vi) Conduta Social – baseada nas características sociais das aves (Tabela 1), estas foram agrupadas em Solitárias (ausência de comportamento gregário, incluindo durante a nidificação) e Coloniais (aves com comportamento gregário, reunindo-se nas zonas de alimentação e nas zonas de nidificação, formando colónias).

A variável sexo, não foi contabilizada para a análise estatística do *Qui-Quadrado*, uma vez que, a maioria das aves amostradas (78,17%) não apresentavam dimorfismo sexual.



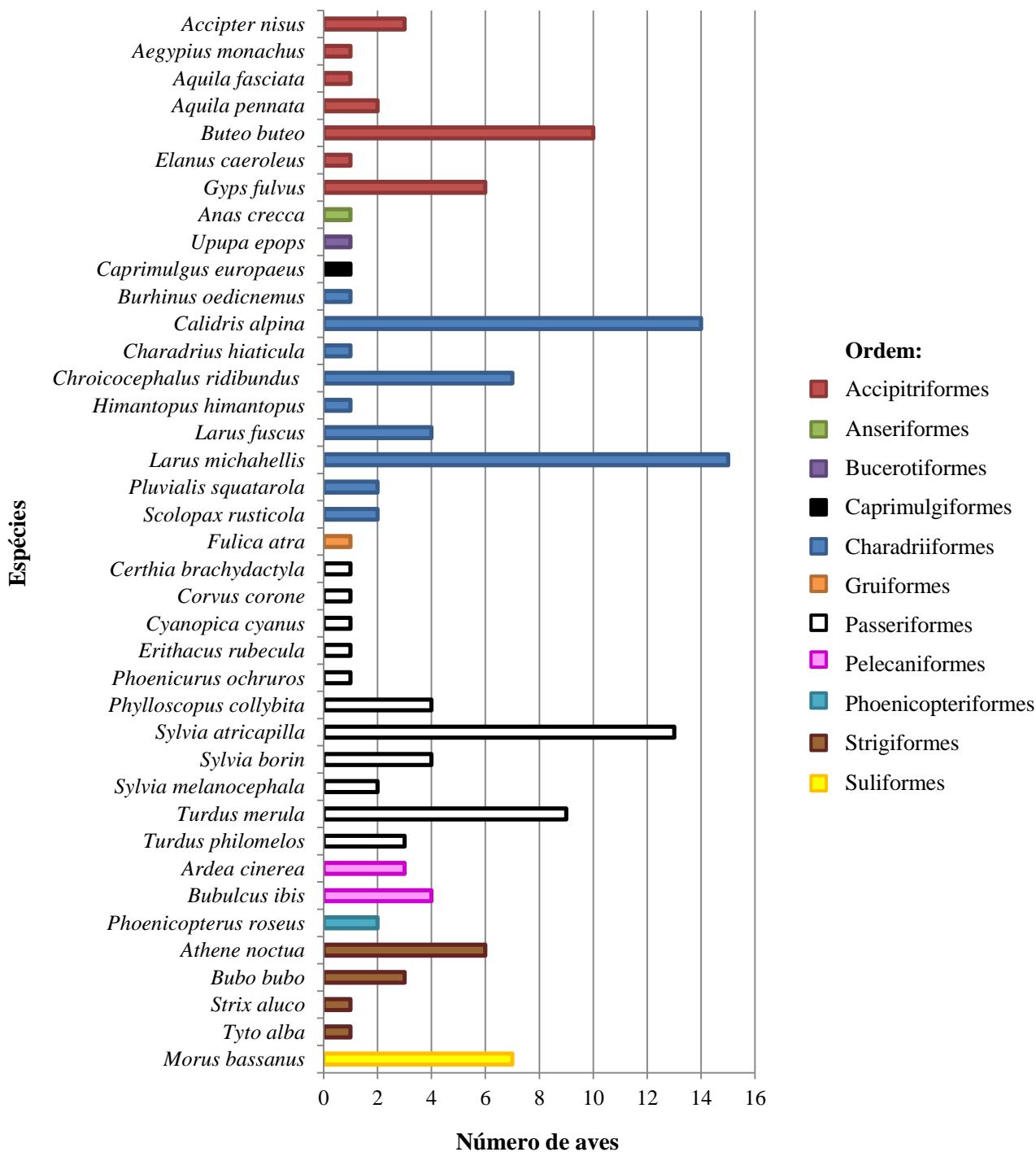
### **3. Resultados**

#### **3.1. Espécies de aves amostradas**

As aves amostradas compreendem 39 espécies, sendo *Larus michahellis* (Gaivota-de-patas-amarelas) a mais predominante com 15 indivíduos (10,56%). Com menor representatividade observaram-se 17 espécies, com 1 único indivíduo (0,70%) cada.

Considerando as ordens das aves, as amostras são representativas de 11 ordens, com Charadriiformes (33,10%), Passeriformes (28,17%) e Accipitriformes (16,90%) mais predominantes e com menor representatividade 4 ordens, nomeadamente Anseriformes, Bucerotiformes, Caprimulgiformes, e Gruiformes, com 1 único indivíduo (0,70%) cada.

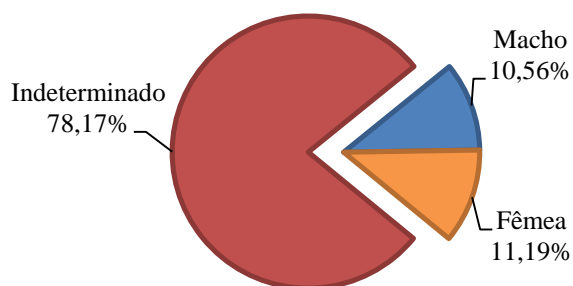
Os dados relativos às espécies de aves amostradas, agrupadas nas respectivas ordens, encontram-se resumidos na Figura 10.



**Figura 10 – Número de aves amostradas consoante a espécie e agrupadas na respectiva ordem.** População amostrada composta pelas ordens: Accipitriformes ( $n=24$ ), Anseriformes ( $n=1$ ), Bucerotiformes ( $n=1$ ), Caprimulgiformes ( $n=1$ ), Charadriiformes ( $n=47$ ), Gruiformes ( $n=1$ ), Passeriformes ( $n=40$ ), Pelecaniformes ( $n=7$ ), Phoenicopteriformes ( $n=2$ ), Strigiformes ( $n=11$ ) e Suliformes ( $n=7$ ).

### 3.2. Sexo das aves amostradas

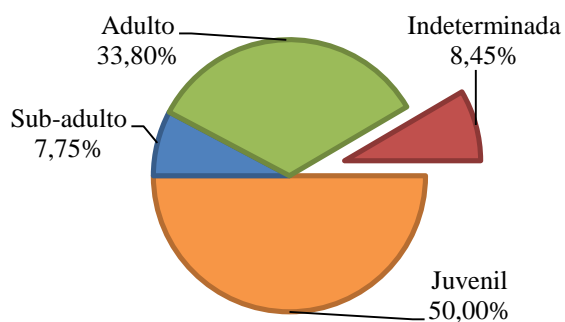
Da totalidade das 142 aves amostradas, só foi possível determinar o sexo de 31 indivíduos (21,83%), sendo 16 (11,27%) fêmeas e 15 (10,56%) machos. As restantes aves, 111 (78,17%), não apresentavam dimorfismo sexual (Figura 11).



**Figura 11 – Percentagem de aves amostradas consoante o sexo ( $n=142$ ).**

### 3.3. Idade das aves amostradas

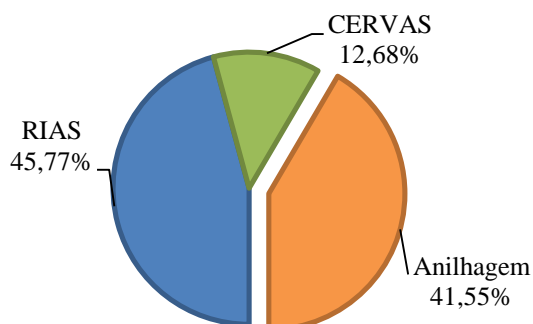
Determinada com base em características da plumagem, quanto à idade (Figura 12), as aves foram classificadas como juvenis ( $n=71$ ), sub-adultas ( $n=11$ ) e adultas ( $n=48$ ). As restantes aves, 12 (8,45%), não exibiam características fenotípicas que permitisse distingui-las, sendo por isso classificadas com idade indeterminada.



**Figura 12 – Percentagem de aves amostradas consoante a idade ( $n=142$ ).**

### 3.4. Proveniência das aves amostradas

Das 142 aves amostradas, 83 (58,45%) correspondem a amostras provenientes dos centros de recuperação, sendo 65 (45,77%) do RIAS e 18 (12,68%) do CERVAS. As outras 59 (41,55%) aves provêm de anilhagem científica (Figura 13).

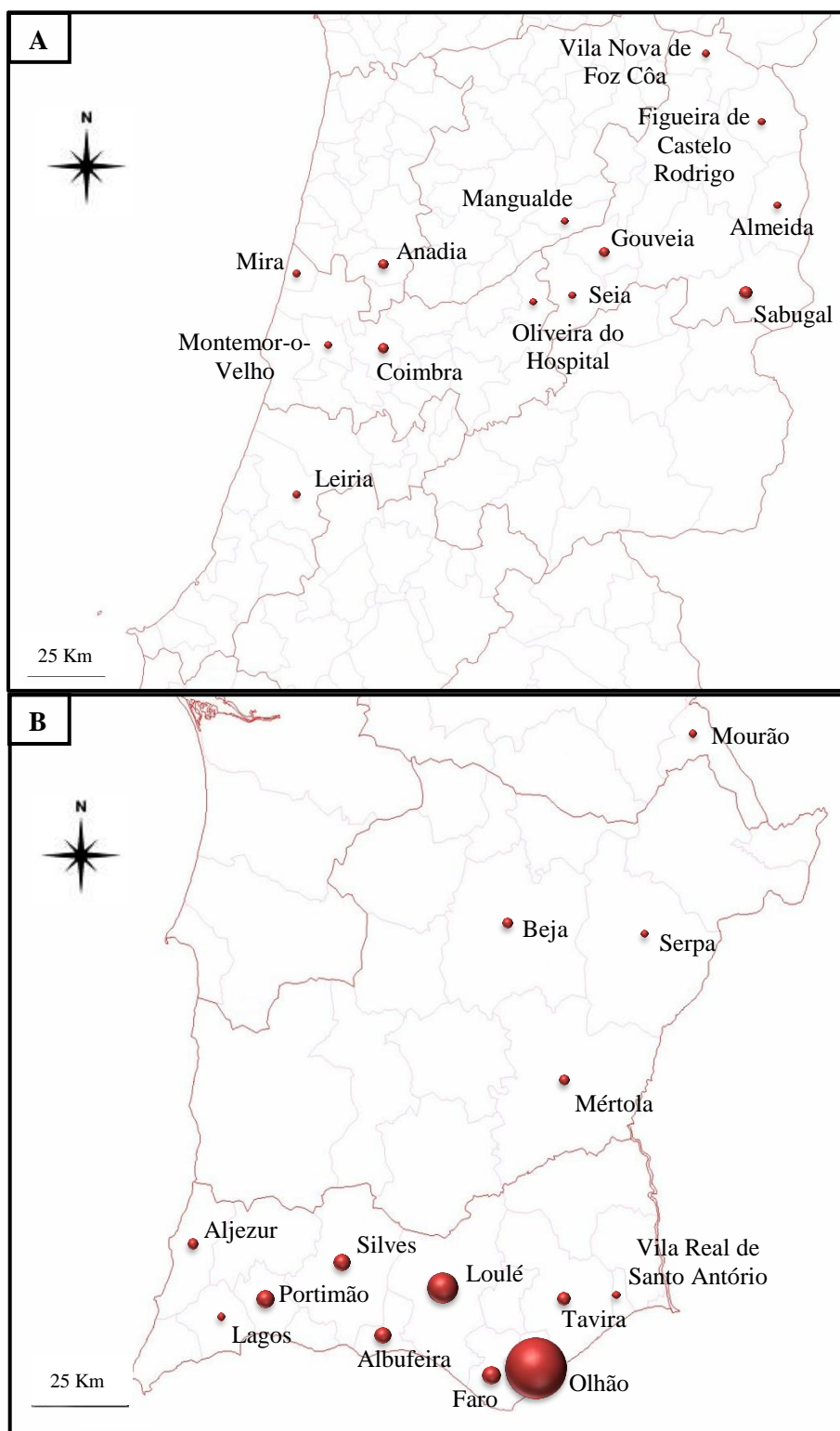


**Figura 13 – Percentagem de aves amostradas consoante a proveniência ( $n=142$ ).**

### 3.5. Concelho de proveniência das aves amostradas

Quanto aos concelhos de proveniência das aves (Figura 14), da região Norte, o Sabugal é o mais representativo com 3 (2,11%) aves recolhidas nesse local, e da região Sul, 71 (50,00%) aves provieram de Olhão (de notar que neste concelho estão contabilizadas 12 aves ingressadas no RIAS e 59 provenientes de anilhagem). De 13 concelhos, provieram apenas 1 (0,70%) ave.

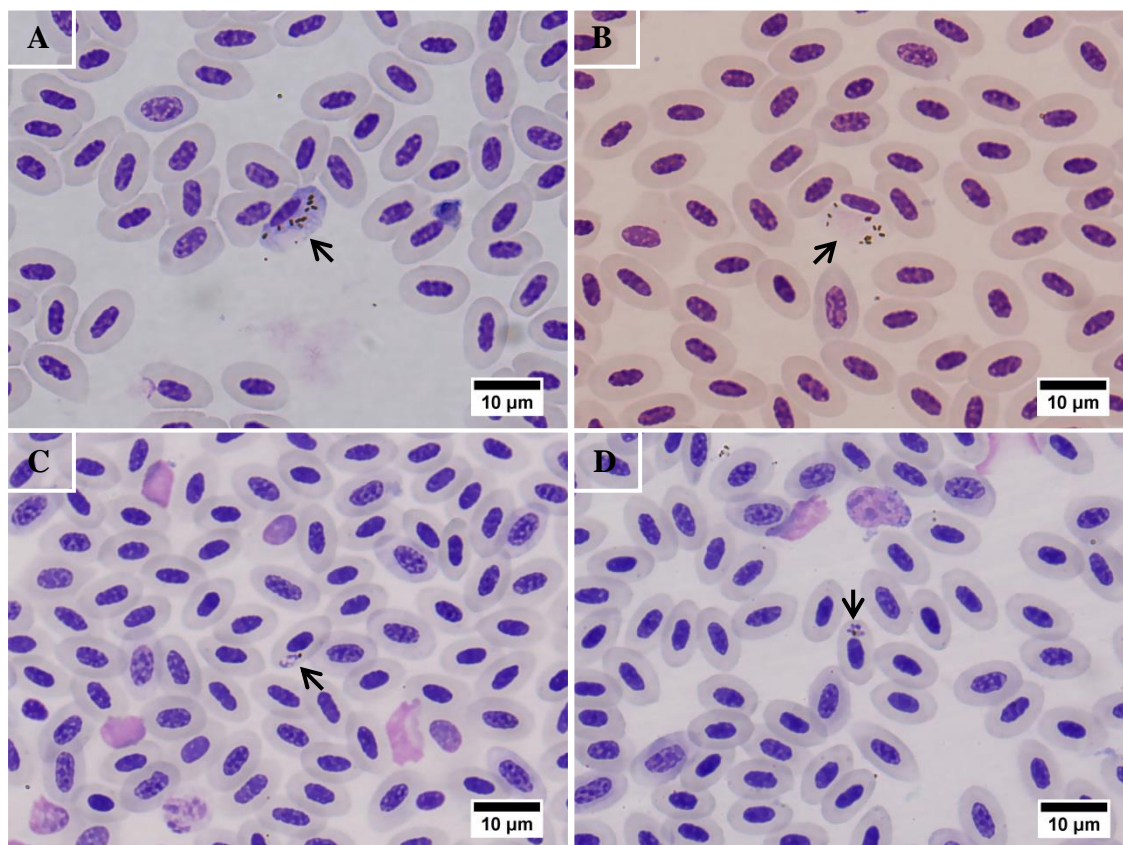




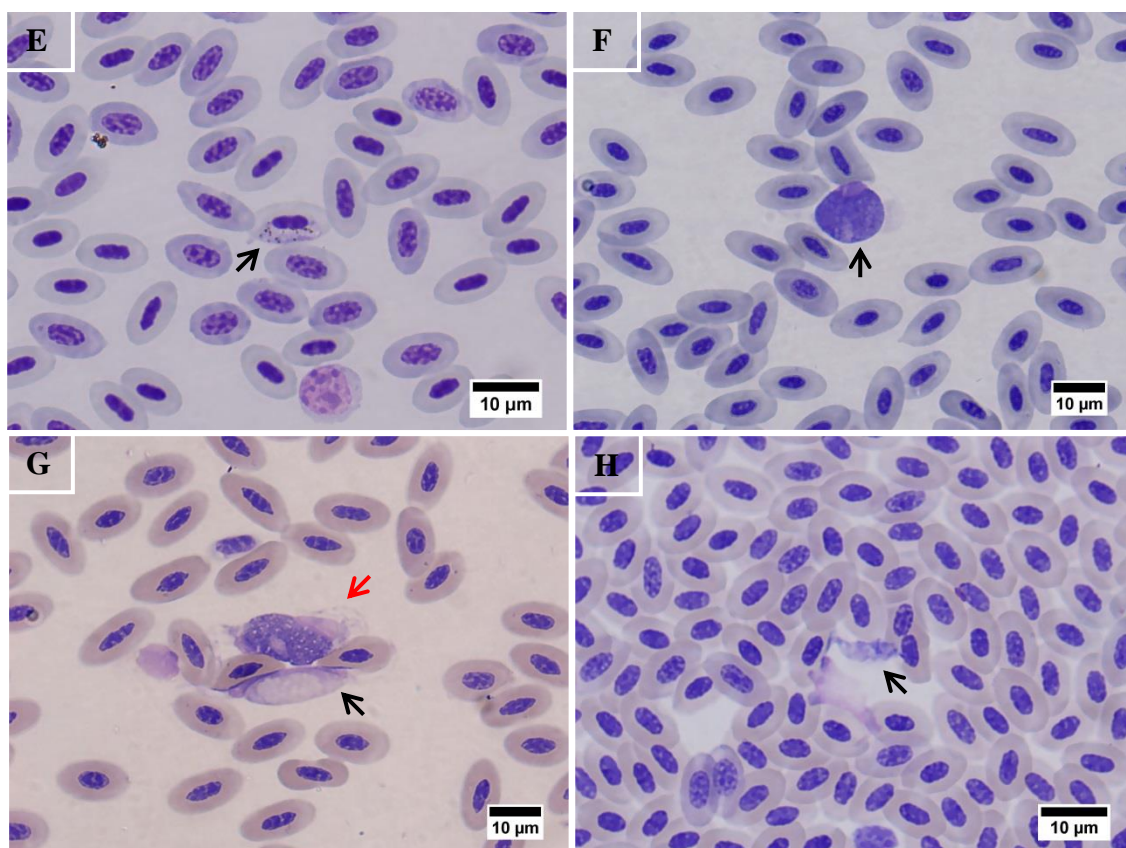
**Figura 14 – Mapa com a dimensão da população amostrada nos concelhos da região Norte (A) e Sul (B) de Portugal.** Concelhos amostrados: Olhão ( $n=71$ ); Loulé ( $n=18$ ); Faro e Portimão ( $n=6$ ); Albufeira e Silves ( $n=5$ ); Sabugal e Tavira ( $n=3$ ); Aljezur, Anadia, Beja, Coimbra e Mértola ( $n=2$ ); Almeida, Figueira de Castelo Rodrigo, Lagos, Leiria, Mangualde, Mira, Montemor-o-Velho, Mourão, Oliveira do Hospital, Seia, Serpa, Vila Nova de Foz Côa e Vila Real de Santo António ( $n=1$ ). Mapas gerados por: Agência Portuguesa do Ambiente 2014.

### 3.6. Resultados da pesquisa de hemoparasitas

As espécies de aves amostradas para pesquisa de hemoparasitas, agrupadas por ordem e família, os gêneros de hemoprotozoários identificados e as respectivas prevalências aparentes foram resumidos no Anexo VIII. Foram identificados os gêneros *Haemoproteus* (Figura 15 A-B), *Plasmodium* (Figura 15 C-E), *Leucocytozoon* (Figura 15 F-G) e *Trypanosoma* (Figura 15 H).

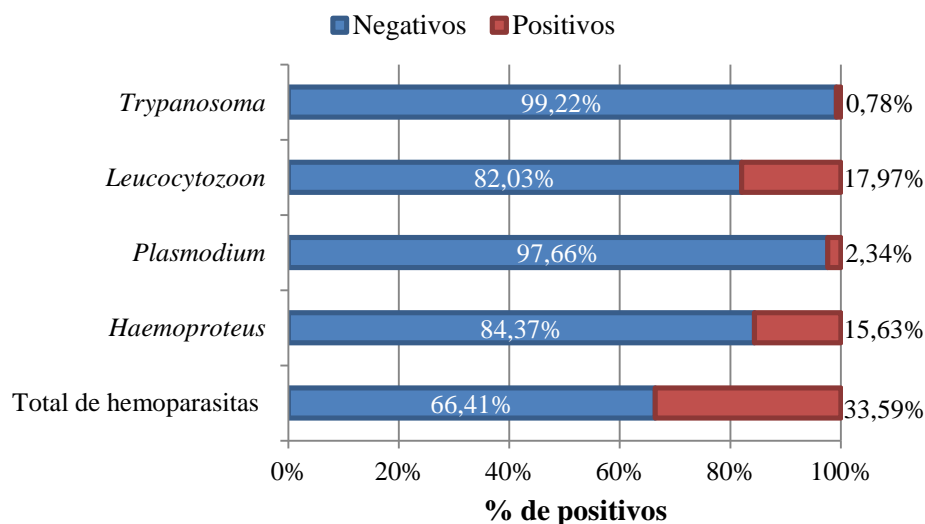


**Figura 15 – Aspecto dos diferentes gêneros de hemoprotozoários observados.** (A) Macrogametócito (seta preta) de *Haemoproteus* spp. em *Sylvia atricapilla* (Toutinegra-de-barrete-preto); (B) Forma redonda de microgametócito (seta preta) de *Haemoproteus* spp. em *Sylvia atricapilla* (Toutinegra-de-barrete-preto); (C) Trofozoíto (seta preta) de *Plasmodium* spp. em *Turdus merula* (Melro-preto); (D) Merontes eritrocitários (seta preta) de *Plasmodium* spp. em *Turdus merula* (Melro-preto). (Originais)



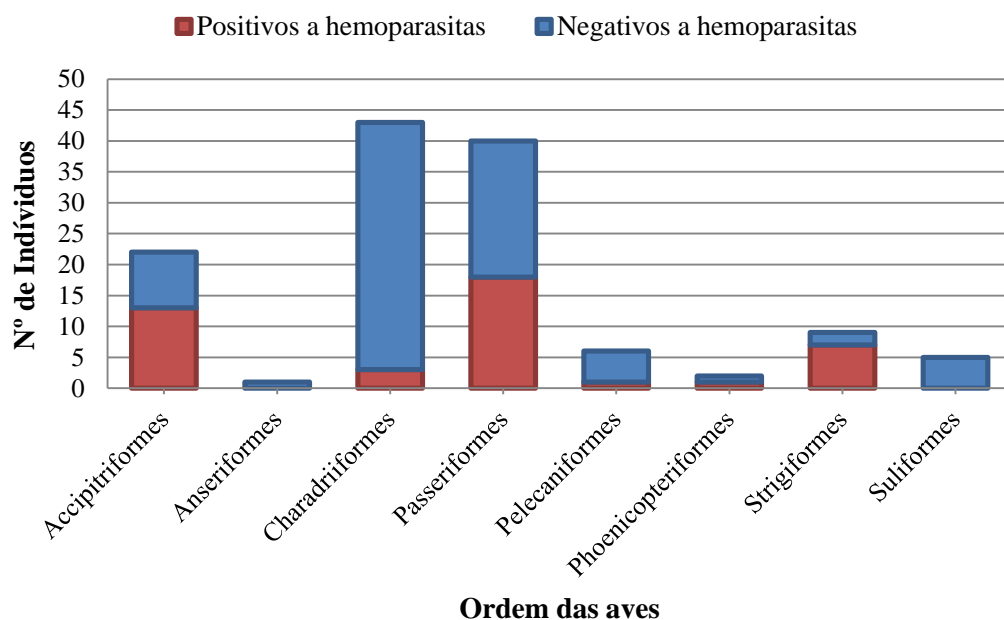
**Figura 15 (continuação) – Aspecto dos diferentes géneros de hemoprotozoários observados.** (E) Microgametócito (seta preta) de *Plasmodium* spp. em *Turdus merula* (Melro-preto); (F) Forma redonda de macrogametócito (seta preta) de *Leucocytozoon* spp. em *Buteo buteo* (Águia-d’asa-redonda). (G) Macrogametócito (seta vermelha) e microgametócitos (seta preta) de *Leucocytozoon* spp. em *Buteo buteo* (Águia-d’asa-redonda); (H) Tripomastigota (seta preta) de *Trypanosoma* spp. em *Sylvia atricapilla* (Toutinegra-de-barrete-preto). (Originais)

Das 128 aves avaliadas para a pesquisa de hemoparasitas, 43 das amostras foram positivas a pelo menos um género de hemoprotozoário, o correspondente a 33,59% da população amostrada. A prevalência de infecção por *Haemoproteus* spp. foi de 15,63% (20/128), *Plasmodium* spp. de 2,34% (3/128), *Leucocytozoon* spp. de 17,97% (23/128) e *Trypanosoma* spp. de 0,78% (1/128) (Figura 16).



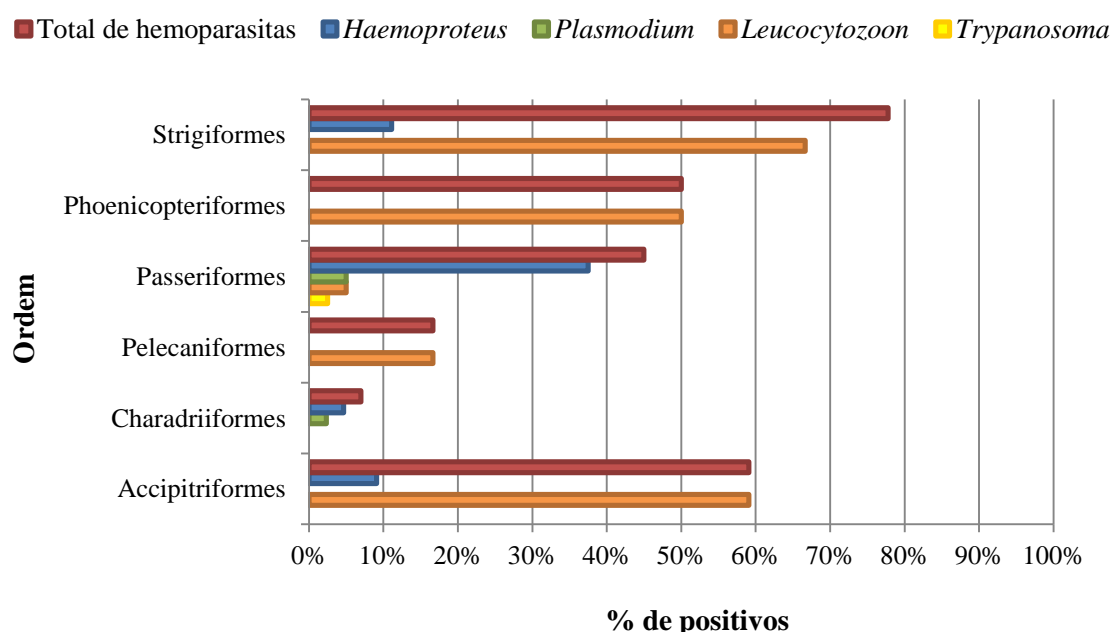
**Figura 16 – Taxa de prevalência dos gêneros de hemoparasitas observados (n=128).**

As aves avaliadas são representativas de oito ordens (Figura 17), nomeadamente Accipitriformes, Anseriformes, Charadriiformes, Passeriformes, Pelecaniformes, Phoenicopteriformes, Strigiformes e Suliformes, sendo de destacar a prevalência de infecção de 77,78% (7/9) nos Strigiformes, 59,09% (13/22) nos Accipitriformes, 45,00% (18/40) nos Passeriformes, e 6,98% (3/43) nos Charadriiformes.



**Figura 17 – Número de aves hemoparasitadas de acordo com a ordem a que pertencem.** As aves amostradas pertencem às ordens: Accipitriformes (n=22), Anseriformes (n=1), Charadriiformes (n=43), Passeriformes (n=40), Pelecaniformes (n=6), Phoenicopteriformes (n=2), Strigiformes (n=9) e Suliformes (n=5).

A diferença na taxa de prevalência de infecção existente entre as oito ordens amostradas (Figura 18), foi altamente significativa ( $p<0,001$ ), sendo mais prevalente nos Strigiformes (77,78%). Foram igualmente encontradas diferenças significativas na taxa de prevalência dos géneros *Haemoproteus* ( $p<0,01$ ) e *Leucocytozoon* ( $p<0,001$ ), sendo respectivamente mais prevalentes em Passeriformes (37,50% - 15/40) e Strigiformes (66,67% - 6/9). De notar que embora a ordem Phoenicopteriformes tenha uma prevalência de infecção de 50,00%, apenas foram amostrados dois indivíduos.

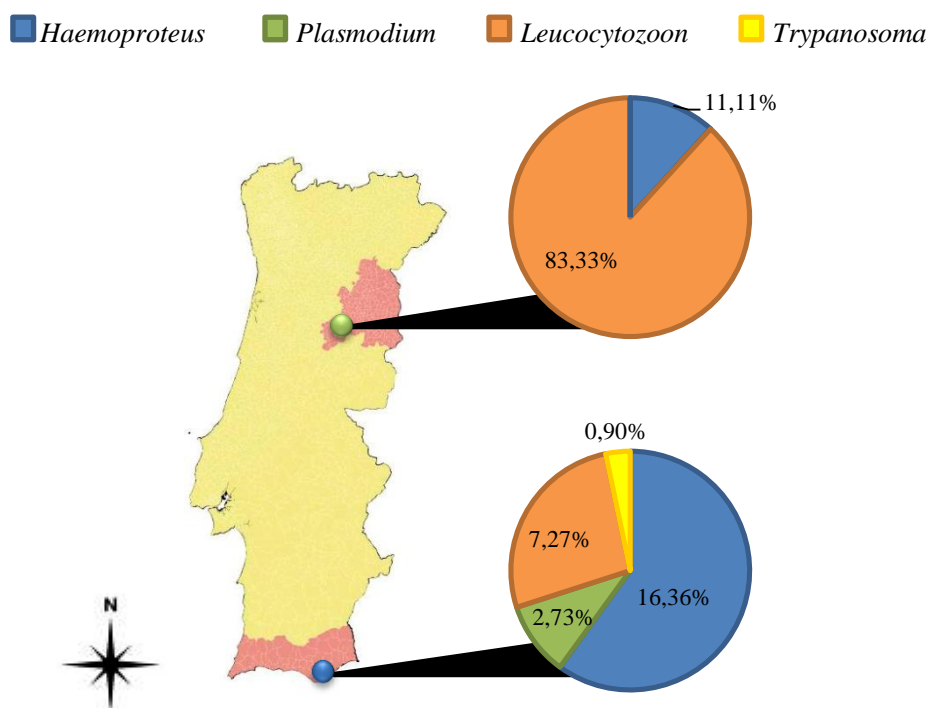


**Figura 18 – Taxa de prevalência dos géneros de hemoparasitas identificados nas oito ordens de aves estudadas\*.** Prevalência de infecção independentemente do género parasitário ( $\chi^2_{(7, 128)}=34,323$ ;  $p<0,001$ ); Prevalência de infecção por *Haemoproteus* spp. ( $\chi^2_{(7, 128)}=21,890$ ;  $p=0,005$ ); Prevalência de infecção por *Plasmodium* spp. ( $\chi^2_{(7, 128)}=2,313$ ;  $p=0,783$ ); Prevalência de infecção por *Leucocytozoon* spp. ( $\chi^2_{(7, 128)}=56,416$ ;  $p<0,001$ ); Prevalência de infecção por *Trypanosoma* spp. ( $\chi^2_{(7, 128)}=2,217$ ;  $p=0,664$ ).

\*Embora estejam apenas representadas as ordens de aves parasitadas, para a análise estatística foram tidas em conta todas as ordens.

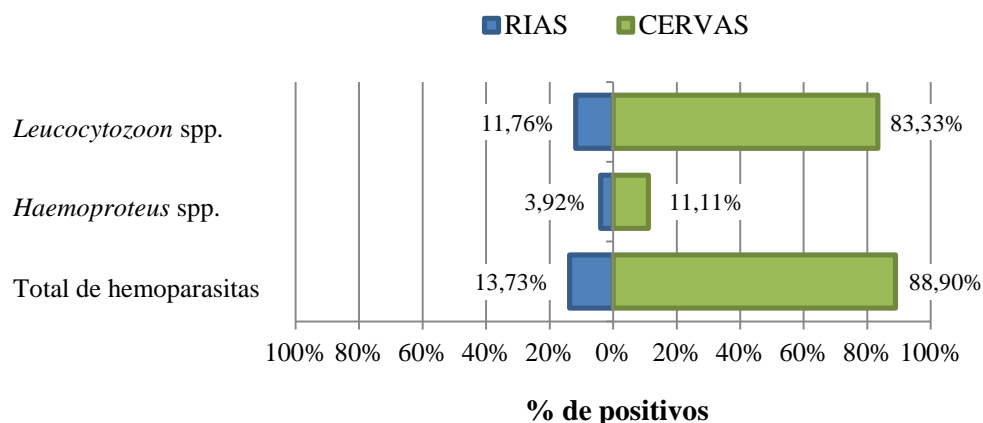
No caso do local de proveniência das amostras (Figura 19), foram observadas diferenças altamente significativas nas taxas de prevalência de infecção por hemoparasitas ( $p<0,001$ ), sendo mais prevalentes a Norte 88,89% (16/18). Considerando os géneros parasitários e as regiões geográficas, apenas se observaram diferenças significativas na prevalência de *Leucocytozoon* spp. ( $p<0,001$ ), sendo mais prevalente a Norte (83,33% - 15/18).





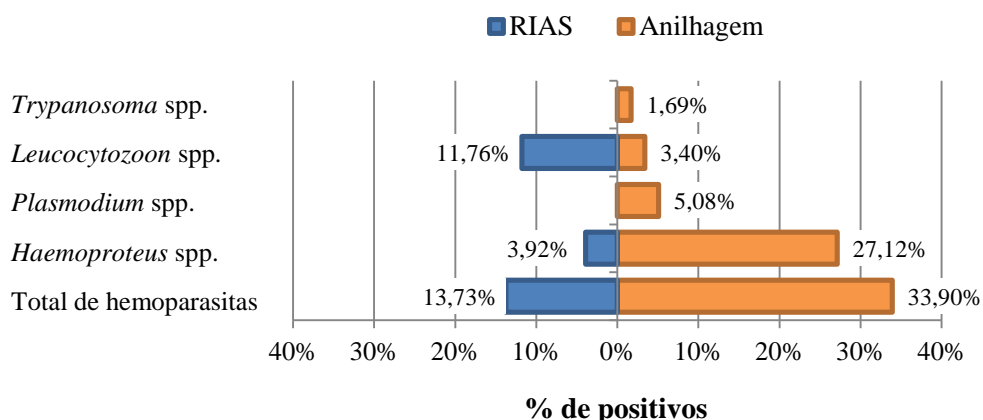
**Figura 19 – Taxa de prevalência dos géneros de hemoparasitas, consoante a região de proveniência da ave (n=128).** Prevalência de infecção, independentemente do género parasitário ( $\chi^2_{(1, 128)}=28,708$ ;  $p<0,001$ ); Prevalência de infecção por *Haemoproteus* spp. ( $\chi^2_{(7, 128)}=0,324$ ;  $p=0,437$ ); Prevalência de infecção por *Plasmodium* spp. ( $\chi^2_{(7, 128)}=0,503$ ;  $p=0,632$ ); Prevalência de infecção por *Leucocytozoon* spp. ( $\chi^2_{(1, 128)}=60,712$ ;  $p<0,001$ ); Prevalência de infecção por *Trypanosoma* spp. ( $\chi^2_{(7, 128)}=0,165$ ;  $p=0,859$ ).

Considerando apenas as amostras dos dois centros de recuperação (Figura 20), a taxa de prevalência de infecção independentemente do género parasitário foi de 33,33%, sendo esta significativamente distinta ( $p<0,001$ ) entre os centros, com as amostras do CERVAS a estarem mais parasitadas (88,89% - 16/18). A prevalência de infecção por *Leucocytozoon* spp. foi de 30,43% (21/69) sendo esta significativamente distinta ( $p<0,001$ ) entre os dois centros, sendo mais prevalente no CERVAS (83,33% - 15/18).



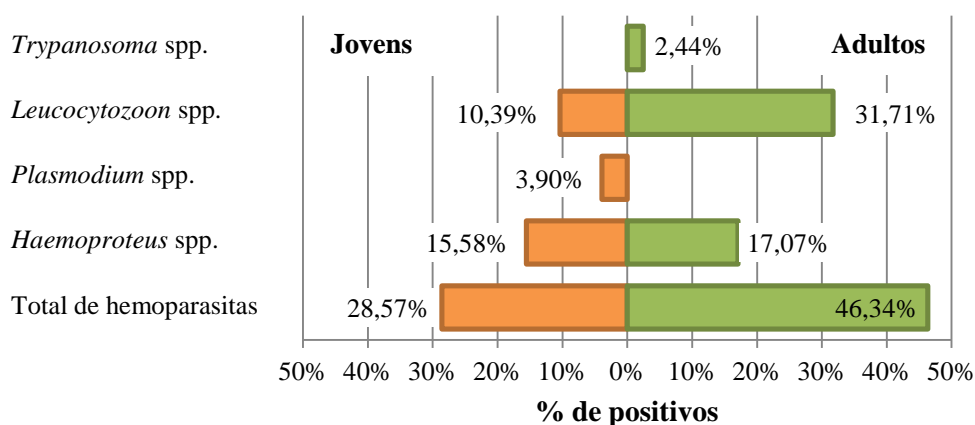
**Figura 20 – Prevalência de infecção pelos gêneros parasitários identificados nas aves dos centros de recuperação, nomeadamente do RIAS e do CERVAS ( $n=69$ ).** Prevalência de infecção independentemente do género parasitário ( $\chi^2_{(1, 69)}=33,824$ ;  $p<0,001$ ); Prevalência de infecção por *Haemoproteus* spp. ( $\chi^2_{(1, 69)}=1,259$ ;  $p=0,277$ ); Prevalência de infecção por *Leucocytozoon* spp. ( $\chi^2_{(1, 69)}=32,187$ ;  $p<0,001$ ).

Por outro lado, considerando as amostras do Sul (Figura 21), consoante a sua real proveniência (i.e., RIAS ou anilhagem científica), foram identificadas diferenças significativas na taxa de prevalência de infecção por hemoparasitas ( $p<0,05$ ), com prevalência de 33,90% (20/59) para aves de anilhagem e 13,73% (7/51) para aves do RIAS. Igualmente a prevalência de *Haemoproteus* spp. diferiu significativamente ( $p<0,01$ ) entre os dois grupos, sendo mais prevalente em aves anilhadas (27,12% - 16/59).



**Figura 21 – Prevalência de infecção pelos gêneros parasitários identificados nas aves da região Sul, nomeadamente do RIAS e de sessões de anilhagem científica ( $n=110$ ).** Prevalência de infecção, independentemente do género parasitário ( $\chi^2_{(1, 110)}=6,010$ ;  $p=0,012$ ); Prevalência de infecção por *Haemoproteus* spp. ( $\chi^2_{(1, 110)}=10,755$ ;  $p=0,001$ ); Prevalência de infecção por *Plasmodium* spp. ( $\chi^2_{(1, 110)}=2,666$ ;  $p=0,151$ ); Prevalência de infecção por *Leucocytozoon* spp. ( $\chi^2_{(1, 110)}=2,845$ ;  $p=0,093$ ); Prevalência de infecção por *Trypanosoma* spp. ( $\chi^2_{(1, 110)}=0,872$ ;  $p=0,536$ ).

No que respeita à idade das aves (Figura 22), não se observaram diferenças significativas nas taxas de prevalência de infecção, independentemente do género parasitário, entre as duas classes etárias ( $p=0,054$ ). Contudo no caso da infecção por *Leucocytozoon* spp., a taxa de prevalência de infecção é significativamente distinta ( $p<0,01$ ), sendo mais prevalente em aves adultas (31,71% - 13/41).



**Figura 22 – Taxa de prevalência dos géneros de hemoparasitas, consoante a idade das aves (n=118).** Prevalência de infecção, independentemente do género parasitário ( $\chi^2_{(1, 118)}=3,726$ ;  $p=0,054$ ); Prevalência de infecção por *Haemoproteus* spp. ( $\chi^2_{(1, 118)}=0,044$ ;  $p=0,834$ ); Prevalência de infecção por *Plasmodium* spp. ( $\chi^2_{(1, 118)}=1,639$ ;  $p=0,274$ ); Prevalência de infecção por *Leucocytozoon* spp. ( $\chi^2_{(1, 118)}=8,311$ ;  $p=0,004$ ). Prevalência de infecção por *Trypanosoma* spp. ( $\chi^2_{(1, 118)}=1,894$ ;  $p=0,347$ ).

Nota: Nesta análise estatística, não foram contabilizadas aves classificadas com idade indeterminada (n=10).

Considerando apenas as ordens de aves parasitadas e representadas por mais do que uma espécie, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas na prevalência de infecção entre as espécies de Pelecaniformes ( $\chi^2_{(1, 6)}=1,200$ ;  $p=0,500$ ), entre as famílias e espécies de Charadriiformes (respectivamente  $\chi^2_{(3, 43)}=6,055$ ;  $p=0,199$  e  $\chi^2_{(7, 43)}=6,864$ ;  $p=0,435$ ), Strigiformes (respectivamente  $\chi^2_{(1, 9)}=0,321$ ;  $p=0,778$  e  $\chi^2_{(3, 9)}=3,214$ ;  $p=0,667$ ) e Passeriformes (respectivamente  $\chi^2_{(3, 40)}=1,001$ ;  $p=0,928$  e  $\chi^2_{(10, 40)}=12,753$ ;  $p=0,190$ ). A única ordem com diferenças significativas na prevalência de infecção entre as espécies, foi os Accipitriformes ( $\chi^2_{(5, 22)}=13,497$ ;  $p=0,004$ ), tendo prevalência superior a 50,00% em todas espécies, excepto no Grifo (*Gyps fulvus*), onde se encontra ausente.



No caso da fenologia (Tabela 2), foram observadas diferenças estatisticamente significativas na taxa de prevalência de infecção, por pelo menos um hemoparasita ( $p<0,001$ ), sendo as aves que poderão ser residentes ou migradoras que apresentam maior prevalência (68,18% - 15/22). Estas aves apresentaram também uma taxa de prevalência de *Haemoproteus* spp. ( $p<0,01$ ) superior à das restantes aves (40,91 - 9/22).

**Tabela 2 – Prevalência de hemoparasitas, consoante a fenologia das aves.**

Fenologia	n	Parasitados		Prevalência (%) de infecção			
		n	%	H	P	L	T
Residente	42	17	40,48	19,05	4,76	21,43	-
MLD	48	8	16,67	6,25	2,08	8,33	-
MLC	16	3	18,75	-	-	18,75	-
Residente/Migrador	22	15	68,18	40,91	-	31,82	4,55
Total	128	43	33,59	15,63	2,34	17,97	0,78
		$\chi^2=20,435$ ; $p<0,001$		$\chi^2=17,204$ ; $p=0,001$	$\chi^2=1,999$ ; $p=0,637$	$\chi^2=6,234$ ; $p=0,102$	$\chi^2=4,856$ ; $p=0,297$

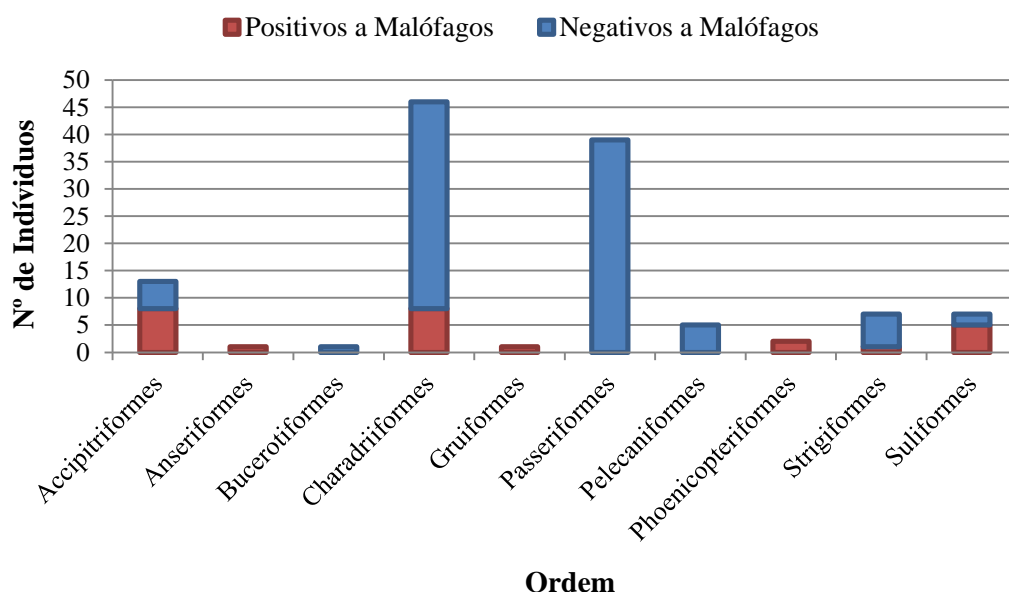
Legenda: MLD – Migrador de longa distância; MCD – Migrador de curta distância (MCD).

Foram identificados quatro casos de infecção mista: dois por *Haemoproteus* spp. e *Leucocytozoon* spp. num Peneireiro-cinzento (*Elanus caeruleus*) e numa Águia-d'asa-redonda (*Buteo buteo*); um por *Haemoproteus* spp. e *Trypanosoma* spp. numa Toutinegra-de-barrete-preto (*Sylvia atricapilla*); e um por *Haemoproteus* spp. e *Plasmodium* spp. num Melro-preto (*Turdus merula*).

### 3.7. Resultados da pesquisa de ectoparasitas

As espécies de aves amostradas para a pesquisa de malófagos, agrupadas por ordem e família, os géneros e/ou espécies de malófagos identificados e as respectivas prevalências aparentes, foram resumidos no Anexo IX.

Das 122 aves amostradas para a presença de malófagos, 21,31% foram positivas a pelo menos uma espécie de malófago, o correspondente a 26 aves. As aves avaliadas são representativas de dez ordens (Figura 23), com diferenças na prevalência de malófagos estatisticamente significativas ( $p<0,001$ ), sendo de destacar a prevalência de infestação em Suliformes (71,43% - 5/7), Accipitriformes (61,54% - 8/13), e Charadriiformes (17,39% - 8/46). Apesar de alta taxa de infestação de Anseriformes, Gruiformes e Phoenicopteriformes, é de notar o baixo número de indivíduos amostrados.



**Figura 23 – Número de aves parasitadas por malófagos de acordo com ordem a que pertencem.** As aves amostradas pertencem às ordens: Accipitriformes ( $n=13$ ), Anseriformes ( $n=1$ ), Bucerotiformes ( $n=1$ ), Charadriiformes ( $n=46$ ), Gruiformes ( $n=1$ ), Passeriformes ( $n=39$ ), Pelecaniformes ( $n=5$ ), Phoenicopteriformes ( $n=2$ ), Strigiformes ( $n=7$ ) e Suliformes ( $n=7$ ). Prevalência de infestação, independentemente do género parasitário, com diferenças significativas entre as ordens de aves ( $\chi^2_{(9, 122)}=50,613$ ;  $p<0,001$ ).

Identificados a partir de 26 aves (10 espécies), os malófagos, compreendem 18 espécies, 12 pertencentes à subordem Amblycera e 6 à subordem Ischnocera. Da subordem Amblycera, destacam-se os géneros *Actornithophilus*, *Laemobothrion*, *Colpocephalum* e *Eidmanniella*, enquanto da subordem Ischnocera, destacam-se os géneros *Pectinopygus* e *Falcolipeurus* (Tabela 3).

**Tabela 3 – Espécies de malófagos identificados nas aves e respectiva prevalência.**

Hospedeiro	<i>n</i>	Aves parasitadas (%)	Malófagos identificados	Prevalência
<i>Aquila fasciata</i>	1	1 (100,00)*	<i>Degeeriella fulva</i> (I)	100,00%
<i>Buteo buteo</i>	2	1 (50,00)*	<i>Degeeriella fulva</i> (I)	50,00%
			<i>Craspedorrhynchus platystomus</i> (I)	50,00%
			<i>Laemobothrion maximum</i> (A)	50,00%
<i>Gyps fulvus</i>	6	6 (100,00)	<i>Falcolipeurus quadripustulatus</i> (I)	83,33%
			<i>Laemobothrion vulturis</i> (A)	66,67%
			<i>Nosopon casteli</i> (A)	16,67%
			<i>Colpocephalum turbinatum</i> (A)	50,00%

Legenda: A – Amblycera; I – Ischnocera.

\*Apesar da alta taxa de prevalência é de notar o baixo número de aves amostradas

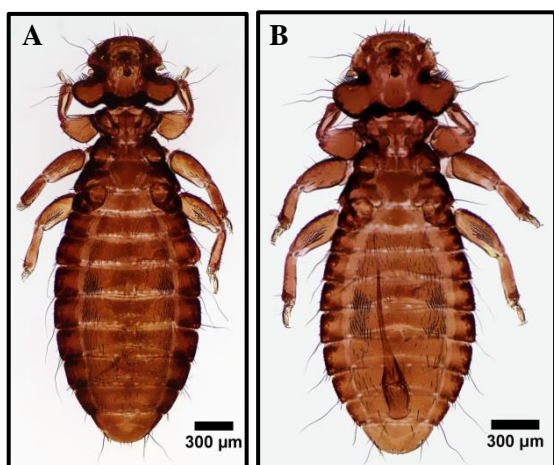
**Tabela 3 (continuação) – Espécies de malófagos identificados nas aves e respectiva prevalência.**

Hospedeiro	n	Aves parasitadas (%)	Malófagos identificados	Prevalência
<i>Anas crecca</i>	1	1 (100,00)*	<i>Trinoton querquedulae</i> (A)	100,00%
<i>Calidris alpina</i>	14	4 (28,57)	<i>Lunaceps schismatus</i> (I)	14,29%
			<i>Actornithophilus umbrinus</i> (A)	21,43%
			<i>Austromenopon lutescens</i> (A)	7,14%
<i>Larus michahellis</i>	14	4 (28,57)	<i>Actornithophilus piceus lari</i> (A)	28,57%
<i>Fulica atra</i>	1	1 (100,00)*	<i>Pseudomenopon pilosum</i> (A)	100,00%
<i>Phoenicopterus roseus</i>	2	2 (100,00)*	<i>Colpocephalum heterossoma</i> (A)	100,00%
			<i>Trinoton femoratum</i> (A)	50,00%
<i>Bubo bubo</i>	1	1 (100,00)*	<i>Strigiphilus</i> sp. (I)	100,00%
<i>Morus bassanus</i>	7	5 (71,43)	<i>Pectinopygus bassani</i> (I)	71,43%
			<i>Eidmanniella pustulosa</i> (A)	57,14%

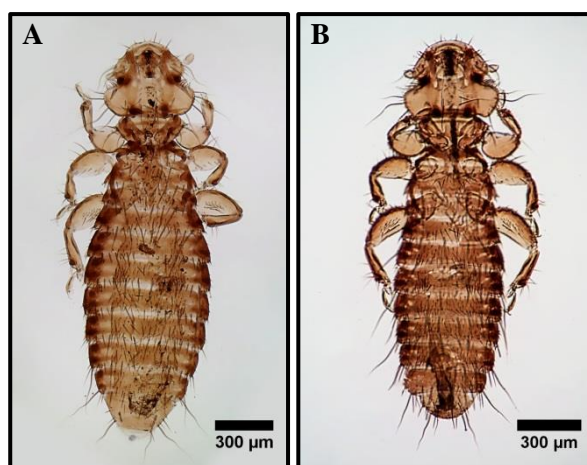
Legenda: A – Amblycera; I – Ischnocera.

\*Apesar da alta taxa de prevalência é de notar o baixo número de aves amostradas

Os malófagos identificados são: *Actornithophilus piceus lari* (Packard, 1870) (Figura 24), *Actornithophilus umbrinus* (Burmeister, 1838) (Figura 25), *Austromenopon lutescens* (Burmeister, 1838) (Figura 26), *Colpocephalum heterossoma* (Piaget, 1880) (Figura 27), *Colpocephalum turbinatum* (Denny, 1842) (Figura 28), *Craspedorrhynchus platystomus* (Burmeister, 1838) (Figura 29), *Degeeriella fulva* (Giebel, 1874) (Figura 30), *Eidmanniella pustulosa* (Nitzsch [In Giebel], 1866) (Figura 31), *Falcolipeurus quadripustulatus* (Burmeister, 1838) (Figura 32), *Laemobothrion maximum* (Scocoli, 1763) (Figura 33), *Laemobothrion vulturis* (Fabricius [J.C.], 1775) (Figura 34), *Lunaceps schismatus* (Gustafsson & Olsson 2012) (Figura 35), *Nosopon casteli* (Tendeiro, 1959) (Figura 36), *Pectinopygus bassani* (Fabricious [O.], 1780) (Figura 37), *Pseudomenopon pilosum* (Scopoli, 1763) (Figura 38), *Strigiphilus* sp. (Mjöberg, 1910) (Figura 39), *Trinoton querquedulae* (Linnaeus, 1758) (Figura 40), *Trinoton femoratum* (Piaget, 1880) (Figura 41) (Fotografias originais).



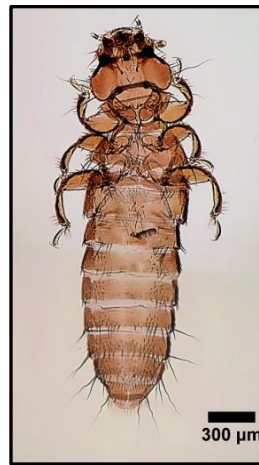
**Figura 24 – *Actornithophilus piceus lari* fêmea (A) e macho (B).**



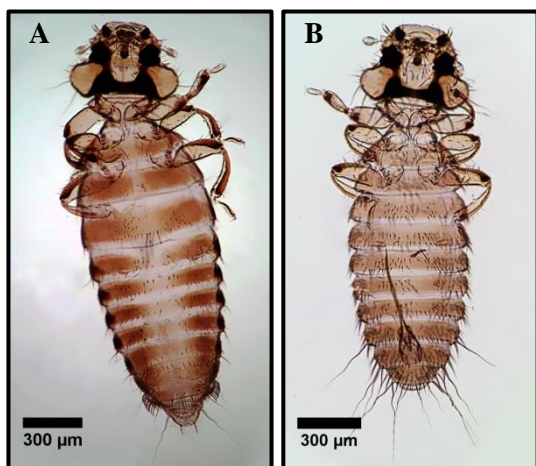
**Figura 25 – *Actornithophilus umbrinus* fêmea (A) e macho (B).**



**Figura 26 – *Austromenopon lutescens* macho.**



**Figura 27 – *Colpocephalum heterossoma* fêmea.**



**Figura 28 – *Colpocephalum turbinatum* fêmea (A) e macho (B).**



**Figura 29 – *Craspedorrhynchus platystomus* fêmea.**

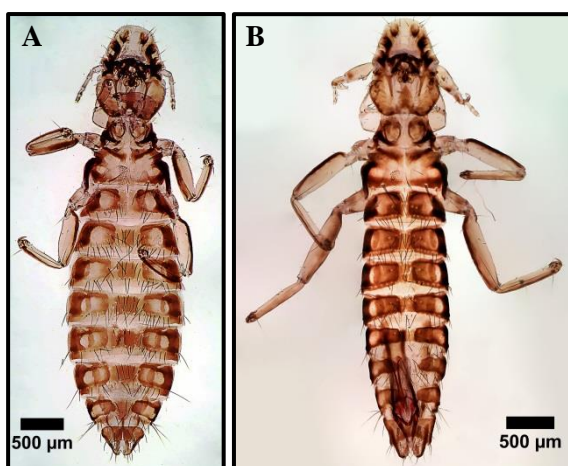




**Figura 30 – *Degeeriella fulva* fêmea.**



**Figura 31 – *Eidmanniella pustulosa* fêmea.**



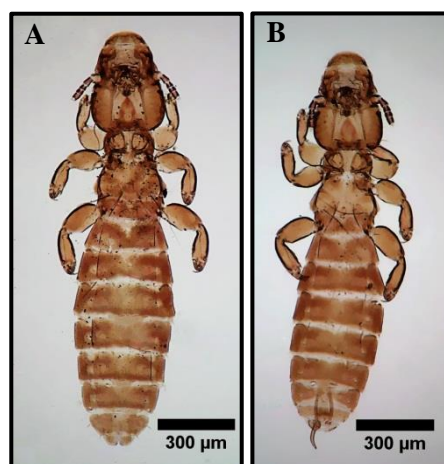
**Figura 32 – *Falcolipeurus quadripustulatus* fêmea (A) e macho (B).**



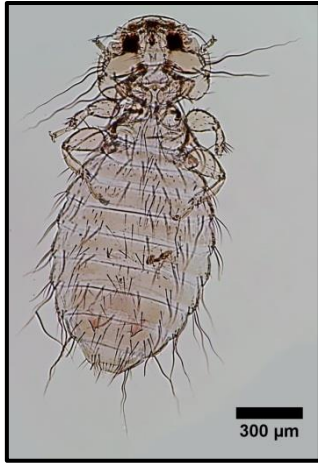
**Figura 33 – *Laemobothrion maximum* macho.**



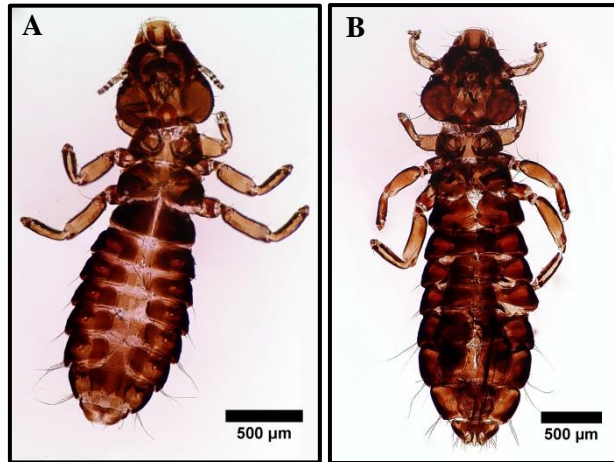
**Figura 34 – *Laemobothrion vulturis* macho.**



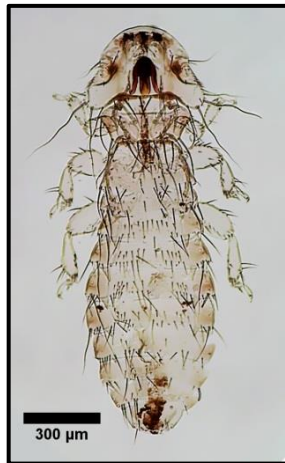
**Figura 35 – *Lunaceps schismatus* fêmea (A) e macho (B).**



**Figura 36 – *Nosopon casteli* fêmea.**



**Figura 37 – *Pectinopygus bassani* fêmea (A) e macho (B).**



**Figura 38 – *Pseudomenopon pilosum* fêmea.**



**Figura 39 – *Strigiphilus* sp. ninfa.**

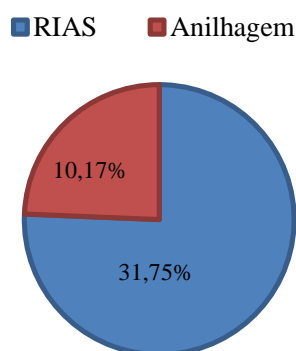


**Figura 40 – *Trinoton femoratum* macho (não quitinizado).**

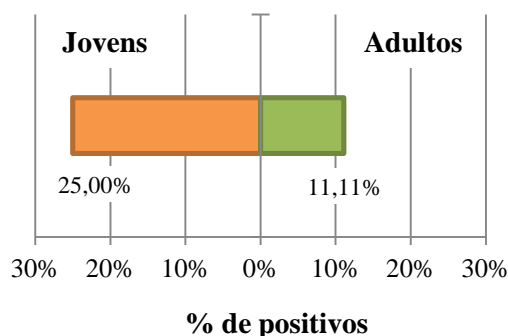


**Figura 41 – *Trinoton querquedulae* macho.**

Considerando que as amostras de ectoparasitas provieram apenas da região Sul de Portugal (Figura 42), observaram-se diferenças estatisticamente significativas ( $p<0,01$ ) na prevalência de malófagos consoante a sua real origem, sendo mais prevalentes nas amostras provenientes do RIAS (31,75% - 20/63). Pelo contrário não foram observadas diferenças estatisticamente significativas na prevalência aparente de malófagos, consoante a idade das aves ( $p>0,05$ ) (Figura 43).



**Figura 42 – Taxa de prevalência de malófagos, consoante a sua proveniência ( $n=122$ ).** Prevalência de malófagos ( $\chi^2_{(1, 122)}=8,485$ ;  $p=0,004$ ).



**Figura 43 – Taxa de prevalência de malófagos, consoante a idade das aves ( $n=112$ ).** Prevalência de malófagos ( $\chi^2_{(1, 112)}=2,888$ ;  $p=0,089$ ).

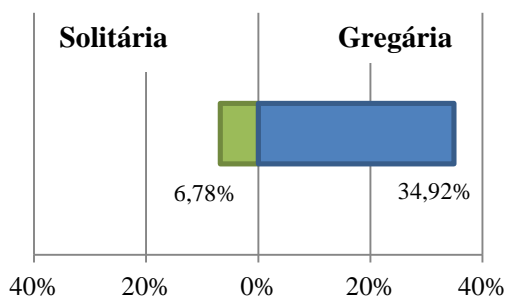
Nota: Nesta análise estatística, não foram contabilizadas aves com idade indeterminada ( $n=10$ ).

Considerando apenas as ordens de aves parasitadas e representadas por mais do que uma espécie, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas na prevalência de infecção por malófagos entre as famílias e espécies de Charadriiformes (respectivamente  $\chi^2_{(4, 46)}=1,322$ ;  $p=0,862$  e  $\chi^2_{(8, 46)}=6,226$ ;  $p=0,662$ ), pelo contrário entre as espécies de Accipitriformes ( $\chi^2_{(6, 13)}=10,887$ ;  $p=0,016$ ) observaram-se diferenças significativas, sendo mais prevalente na espécie *Gyps fulvus* (100,00% - 6/6).

Das 26 aves parasitadas por malófagos, 50,00% apresentaram infestações mistas, havendo mesmo uma ave, um Grifo (*Gyps fulvus*), parasitado com quatro espécies de malófagos: *Laemobothrion vulturis*, *Nosopon casteli*, *Falcolipeurus quadripustulatus* e *Colpocephalum turbinatum*.

No caso da conduta social (Figura 44) e fenologia (Tabela 4), foram observadas diferenças estatisticamente significativas ( $p<0,001$  e  $p<0,05$ , respectivamente) na

prevalência aparente de malófagos, sendo mais comuns em aves com conduta gregária (34,92% - 22/63) e aves migradoras de longa distância (34,04% - 16/47).



**Figura 44 – Taxa de prevalência de malófagos, consoante a sociabilidade das aves (n=122).** Prevalência de malófagos significativa ( $\chi^2_{(1, 122)}=14,388$ ;  $p<0,001$ ).

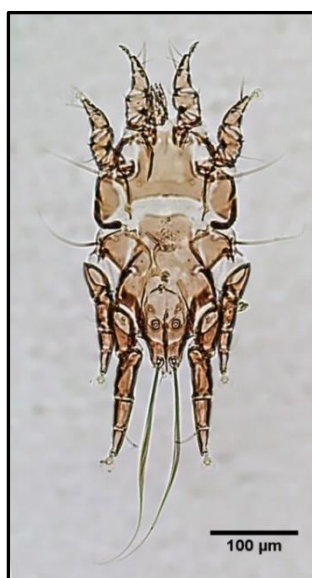
**Tabela 4 – Prevalência de malófagos, consoante a fenologia das aves.**

Fenologia	n	Parasitados	
		n	%
Residente	46	7	15,22
MLD	47	16	34,04
MCD	14	2	14,28
Residente/Migrador	15	1	6,67
<b>Total</b>	<b>122</b>	<b>26</b>	<b>21,31</b>

$\chi^2=7,892$ ;  $p=0,047$

Legenda: MLD – Migrador de Longa distância, MCD – Migrador de Curta distância.

Além dos malófagos, foram identificados um ácaro, *Alloptes calidridis* (Dubinin, 1951) (Figura 45), e um coleóptero, da tribo Ptiliini (Figura 46), respectivamente provenientes de um Pilrito-comum (*Calidris alpina*) e de um Grifo (*Gyps fulvus*) (Fotografias originais).



**Figura 45 – Fotomicrografia do ácaro *Alloptes calidridis*.**



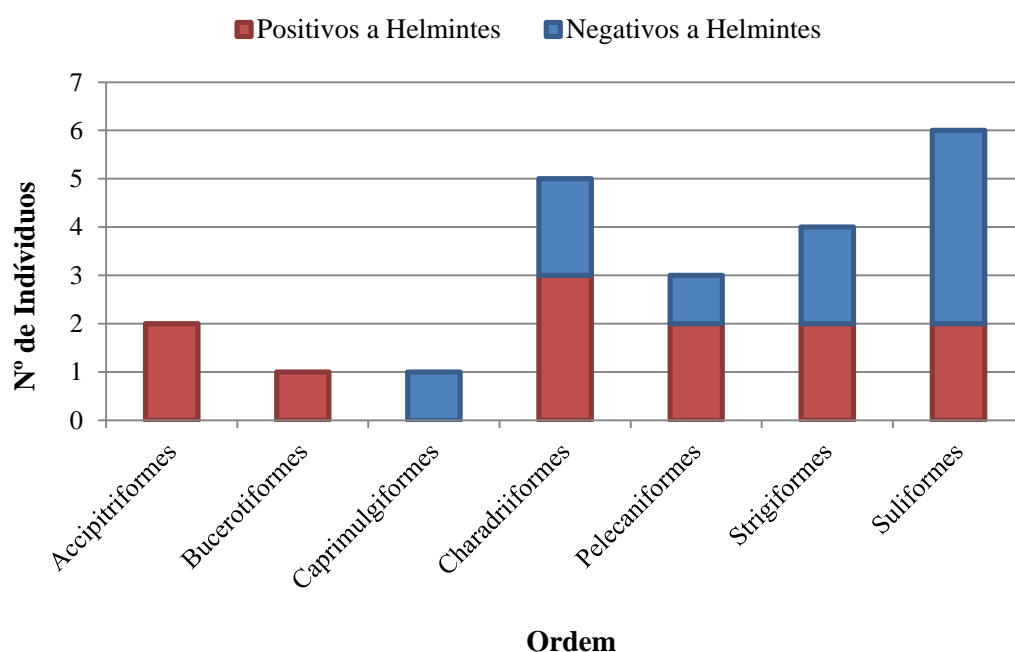
**Figura 46 – Fotomicrografia de coleóptero da tribo Ptiliini.**



### 3.8. Resultados da pesquisa de helmintes

As espécies de aves amostradas para a pesquisa de helmintes, por ordem e família, os gêneros de helmintes identificados e as respectivas prevalências aparentes foram resumidos no Anexo X.

Das 22 aves amostradas para a presença de helmintes, representativas de sete ordens (Figura 47), 54,55% foram positivas, o equivalente a 12 aves. A prevalência de infecção entre estas ordens de aves, não apresentaram diferenças estatisticamente significativas ( $p>0,05$ ). Apesar da alta taxa de prevalência de infecção de grande parte das ordens parasitadas, é de notar o baixo número de indivíduos amostrados.



**Figura 47 – Número de aves parasitadas por helmintes de acordo com ordem a que pertencem.** As aves amostradas pertencem às ordens: Accipitriformes ( $n=2$ ), Bucerotiformes ( $n=1$ ), Caprimulgiformes ( $n=1$ ), Charadriiformes ( $n=5$ ), Pelecaniformes ( $n=3$ ) e Strigiformes ( $n=4$ ) e Suliformes ( $n=6$ ). Prevalência de infecção, independentemente do gênero parasitário, com diferenças significativas entre as ordens de aves ( $\chi^2_{(6, 22)}=5,060$ ;  $p=0,683$ ).

Identificadas a partir de apenas 9 espécies de aves (11 indivíduos), 75,00% das infecções helmínticas, correspondem a infecções por nemátodes, enquanto as restantes são infecções por céstodes (Tabela 5).

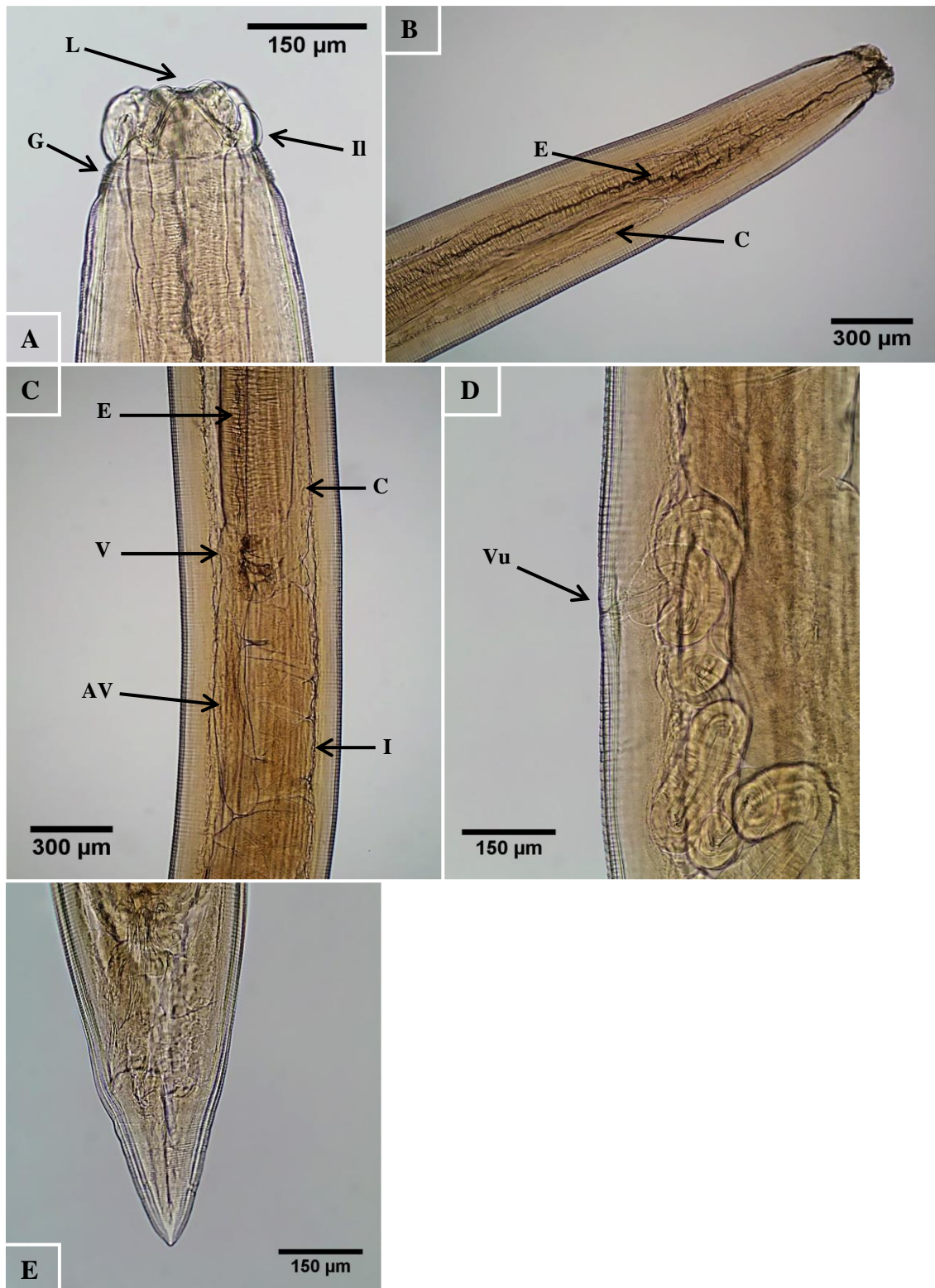
**Tabela 5 – Helmintes identificados nas aves e respectiva prevalência e intensidade média.**

Hospedeiro	n	Helmintes identificados	Aves parasitadas		Intensidade média
			n	%	
<i>Aquila fasciata</i>	1	<i>Porrocaecum</i> sp. (N)	1	100,00*	5.00
<i>Elanus caeruleus</i>	1	<i>Synhimantus</i> (S.) <i>laticeps</i> (N)	1	100,00*	4.00
<i>Upupa epops</i>	1	<i>Neyraia</i> sp. (C)	1	100,00*	1.00
<i>Himantopus himantopus</i>	1	<i>Diplophallus</i> sp. (C)	1	100,00*	3.00
<i>Larus fuscus</i>	1	<i>Tetrabothrius</i> sp. (C)	1	100,00*	2.00
<i>Larus michahellis</i>	3	<i>Cosmocephalus obvelatus</i> (N)	1	33,33	1.00
<i>Bubulcus ibis</i>	2	<i>Desportesius invaginatus</i> (N)	2	100,00*	2.50
<i>Athene noctua</i>	3	<i>Synhimantus</i> ( <i>Dispharynx</i> ) <i>nasuta</i> (N)	2	66,67*	4.00
<i>Morus bassanus</i>	6	<i>Contracaecum</i> sp. (N)	2	33,33	1.50

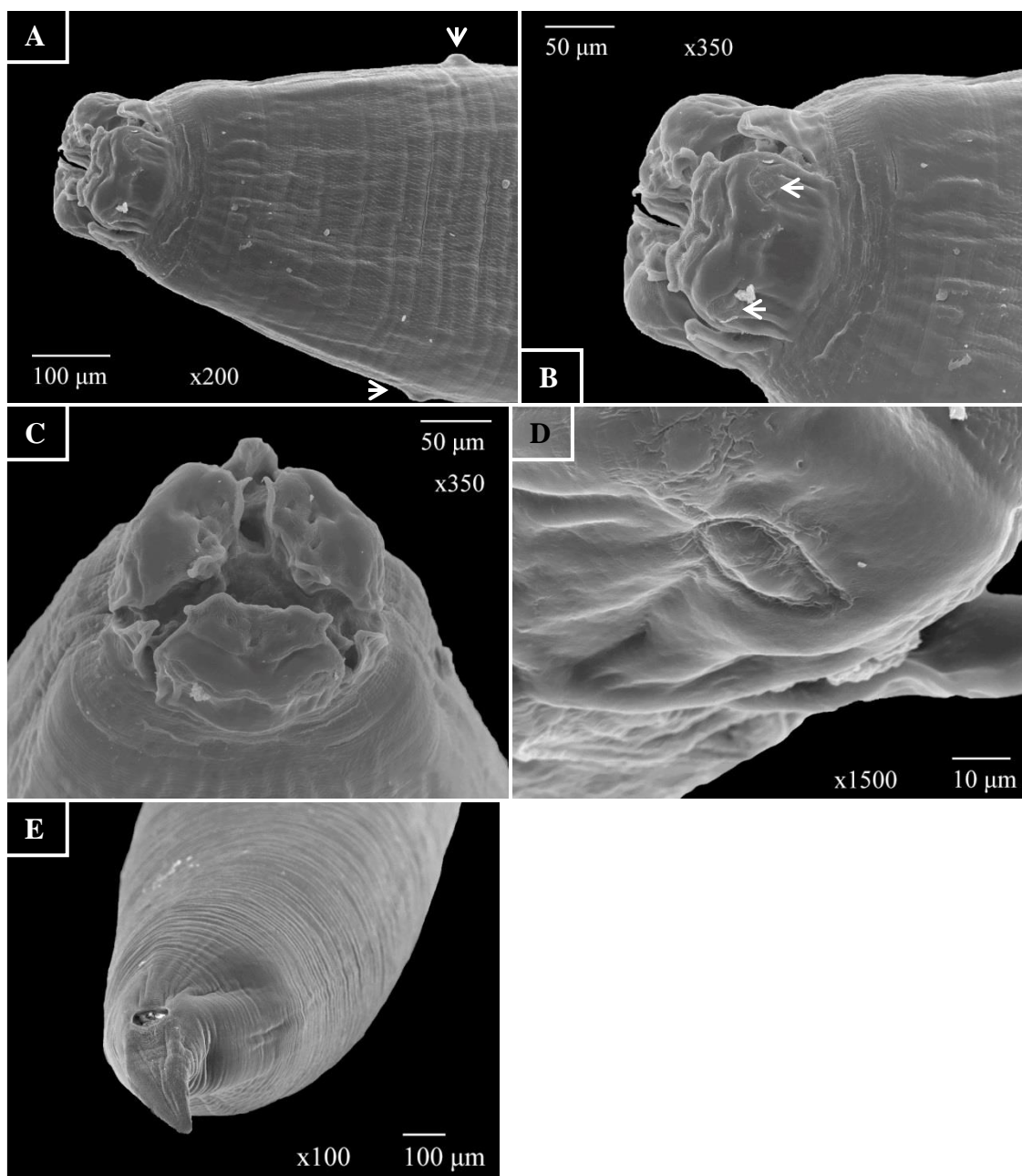
Legenda: N – Nemátode; C – Céstode. Intensidade média – número de parasitas por aves parasitadas pelo mesmo

\*Apesar da alta taxa de prevalência é de notar o baixo número de aves amostradas

Os nemátodes identificados são: *Contracaecum* sp. (Railliet e Henry, 1912) (Figuras: 48 e 49), *Porrocaecum* sp. (Railliet e Henry, 1912) (Figuras: 50 e 51), *Synhimantus* (*Dispharynx*) *nasuta* (Rudolphi, 1819) (Figura 52), *Synhimantus* (S.) *laticeps* (Rudolphi, 1819) (Figura 53), *Desportesius invaginatus* (Linstow, 1901) (Figura 54), *Cosmocephalus obvelatus* (Creplin, 1825) (Figura 55). Por sua vez os céstodes são *Neyraia* (Joyeux e Timon-David, 1934) (Figura 56 A), *Tetrabothrius* (Rudolphi, 1819) (Figuras: 56 B e 57 B-D) e *Diplophallus* sp. (Fuhrmann, 1900) (Figura: 56 C-E e 57 A). (Fotografias originais)

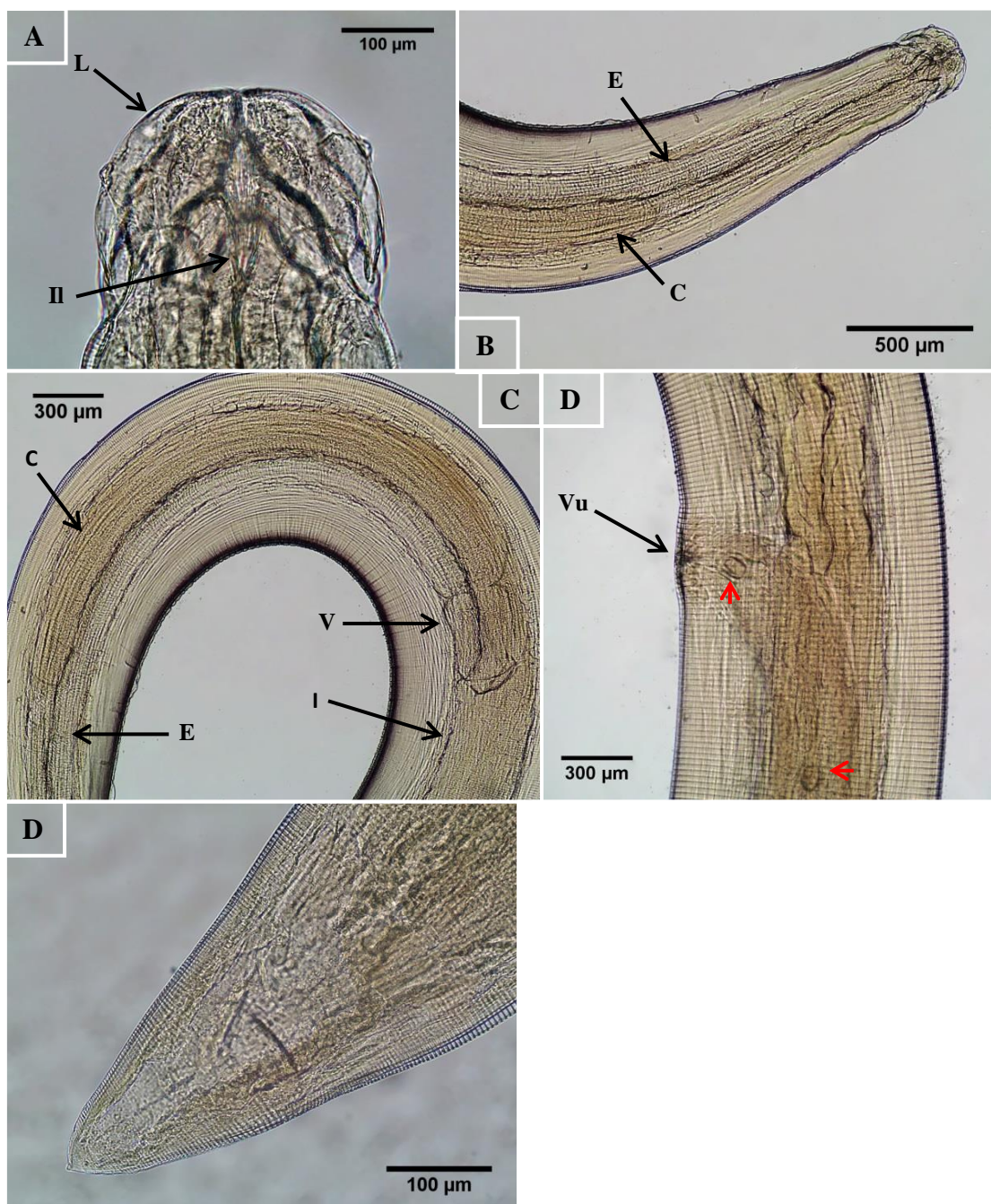


**Figura 48 – Aspectos morfológicos de fêmeas do gênero *Contracaecum*.** A – Região cefálica caracterizada por três lábios proeminentes (L), três pequenos interlábios (II), e coroa de pregas cuticulares na margem posterior da região cefálica (G) (vista ventral). B – Região anterior com esôfago (E) e ceco (C) (vista ventral). C – Região anterior, onde é visível o segmento final do esôfago (E), a parte inicial do ceco (C), ventrículo arredondado (V), com apêndice ventricular oblongo (AV), e intestino (I) (vista ventral). D – Região da vulva (Vu) (vista lateral). E – Região posterior (vista ventral).

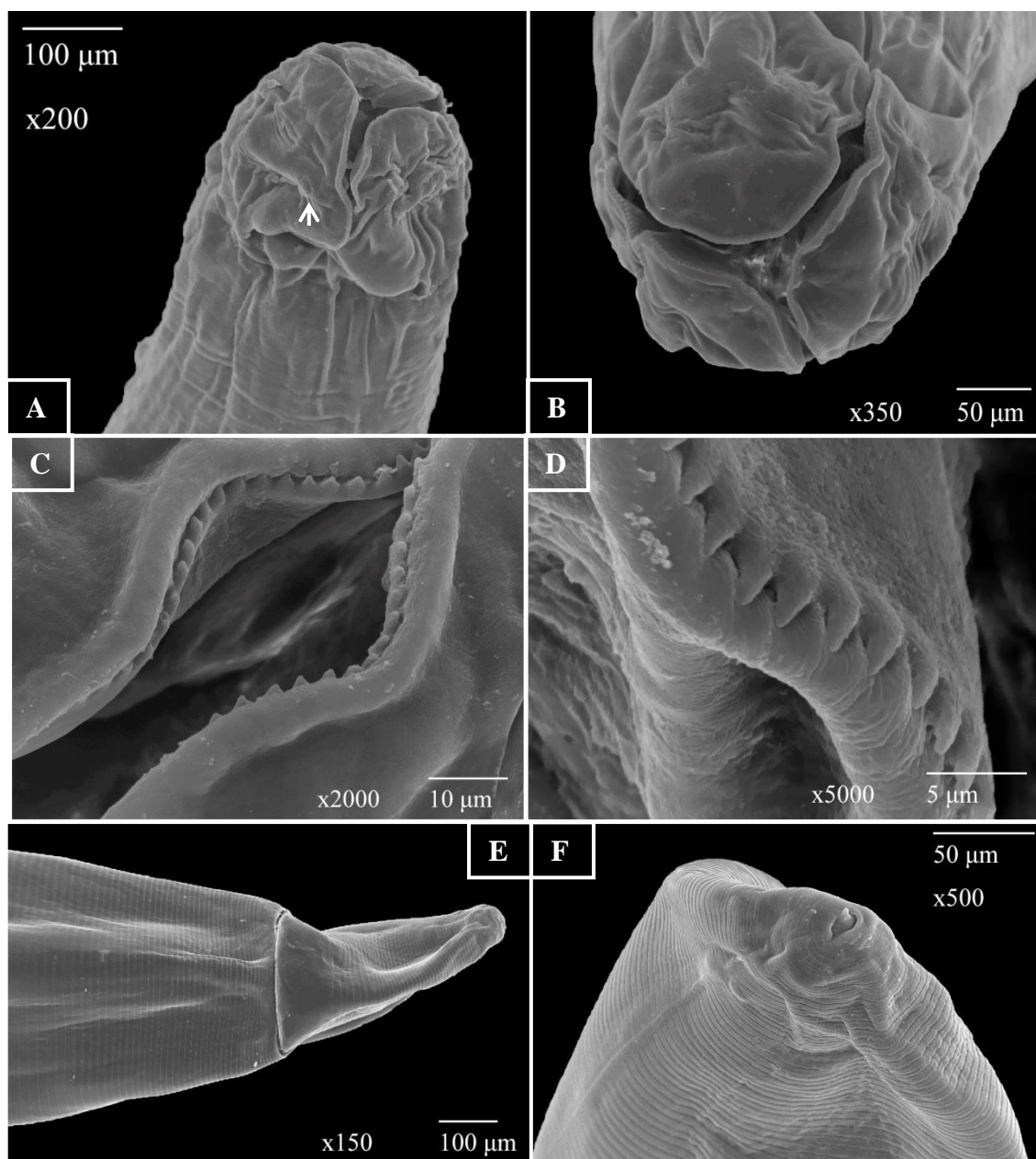


**Figura 49 – Aspectos morfológicos de fêmeas do gênero *Contracaecum* obtidas por microscopia electrónica de varrimento.** A – Região anterior com três lábios proeminentes, três pequenos interlábios e duas papilas cervicais (setas brancas) (vista dorsal). B – Região cefálica com as duas papilas no lábio (setas brancas) (vista dorsal). C – Região cefálica (vista apical). D – Papila do lábio (vista dorsal). E – Região posterior (vista ventral).



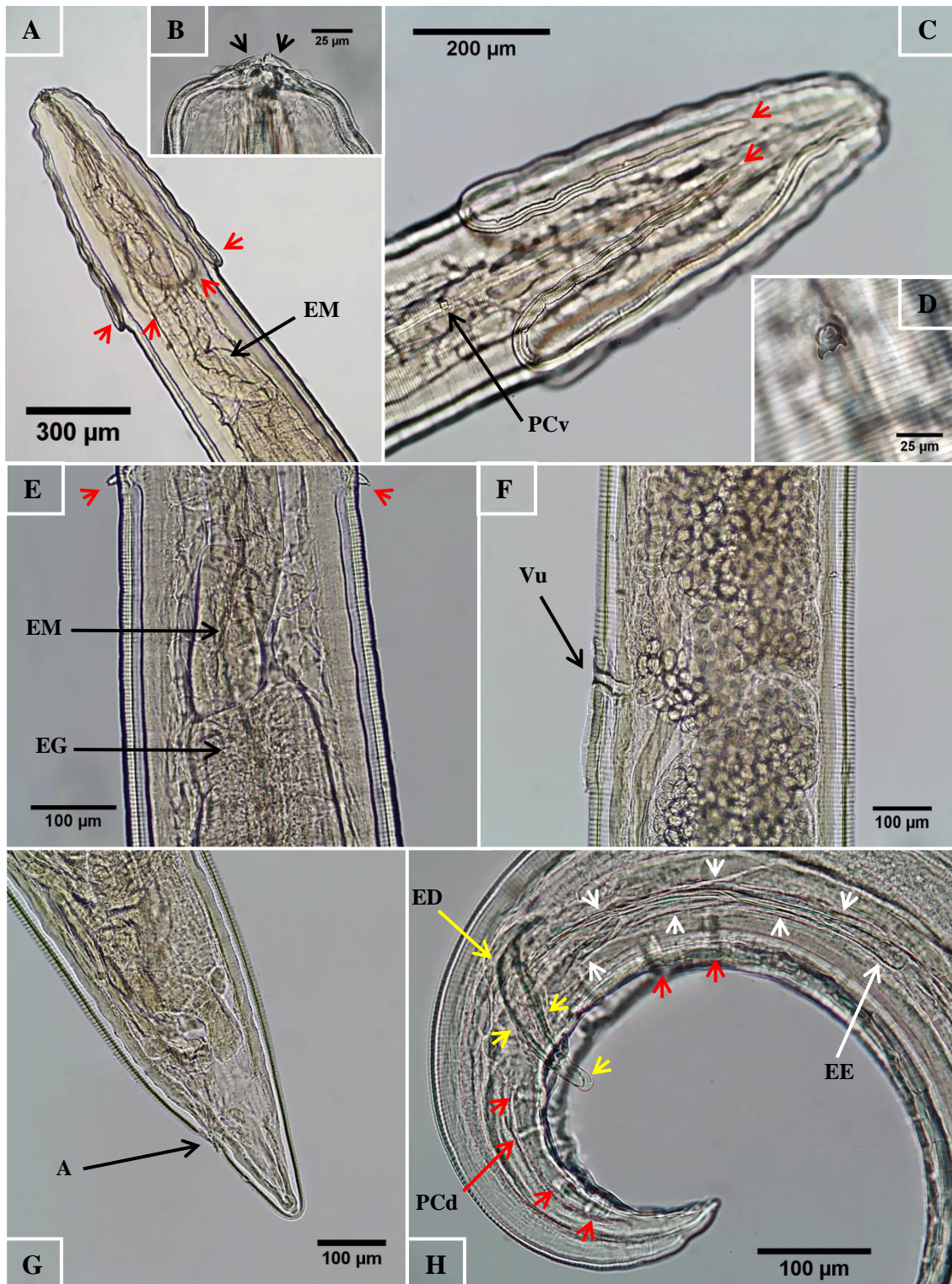


**Figura 50 – Aspectos morfológicos de fêmeas do gênero *Porrocaecum*.** A – Região cefálica caracterizada por três lábios proeminentes (L) e três interlábios (Il) (vista ventral). B – Região anterior com esôfago (E) e ceco (C) (vista lateral). C – Continuação da região do anterior, com esôfago (E), ceco (C), ventrículo pequeno e oblongo (V), sem apêndice ventricular, e intestino (I) (vista lateral). D – Região da vulva (Vu) com ovos larvados (setas vermelhas) (vista lateral). E – Região posterior (vista ventral).



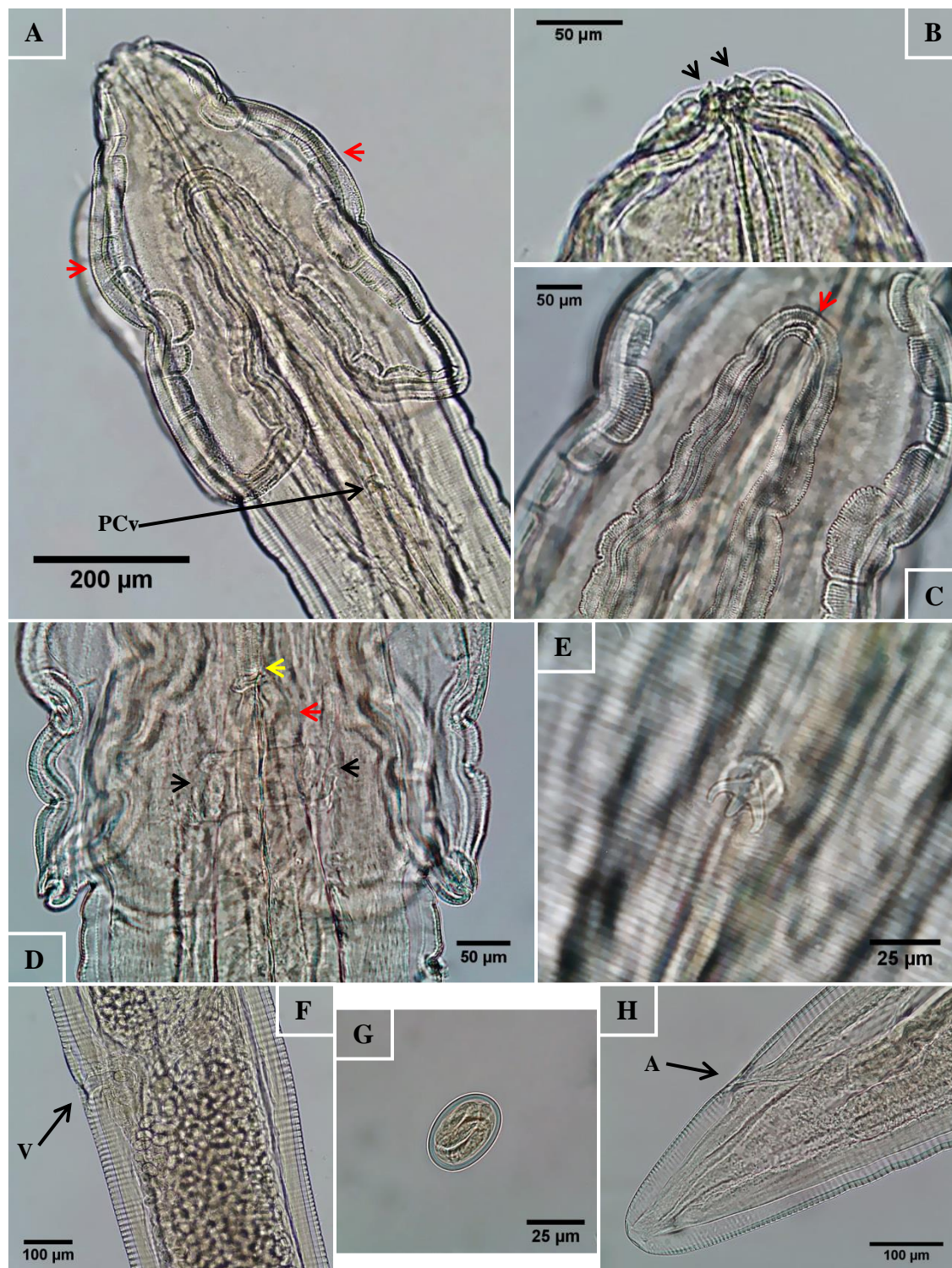
**Figura 51 – Aspectos morfológicos de fêmeas do gênero *Porrocaecum* obtidas por microscopia electrónica de varrimento.** A – Região anterior com três lábios proeminentes e com duas papilas labiais unidas, no lábio dorsal (seta branca) (vista lateral). B – Região cefálica com três lábios proeminentes (vista apical). C – Linha de dentículas entre a região interna e externa dos lábios (vista ventral). D – Dentículas cónicas (vista ventral). E – Região posterior (vista ventral). F – Região posterior (vista posterior).





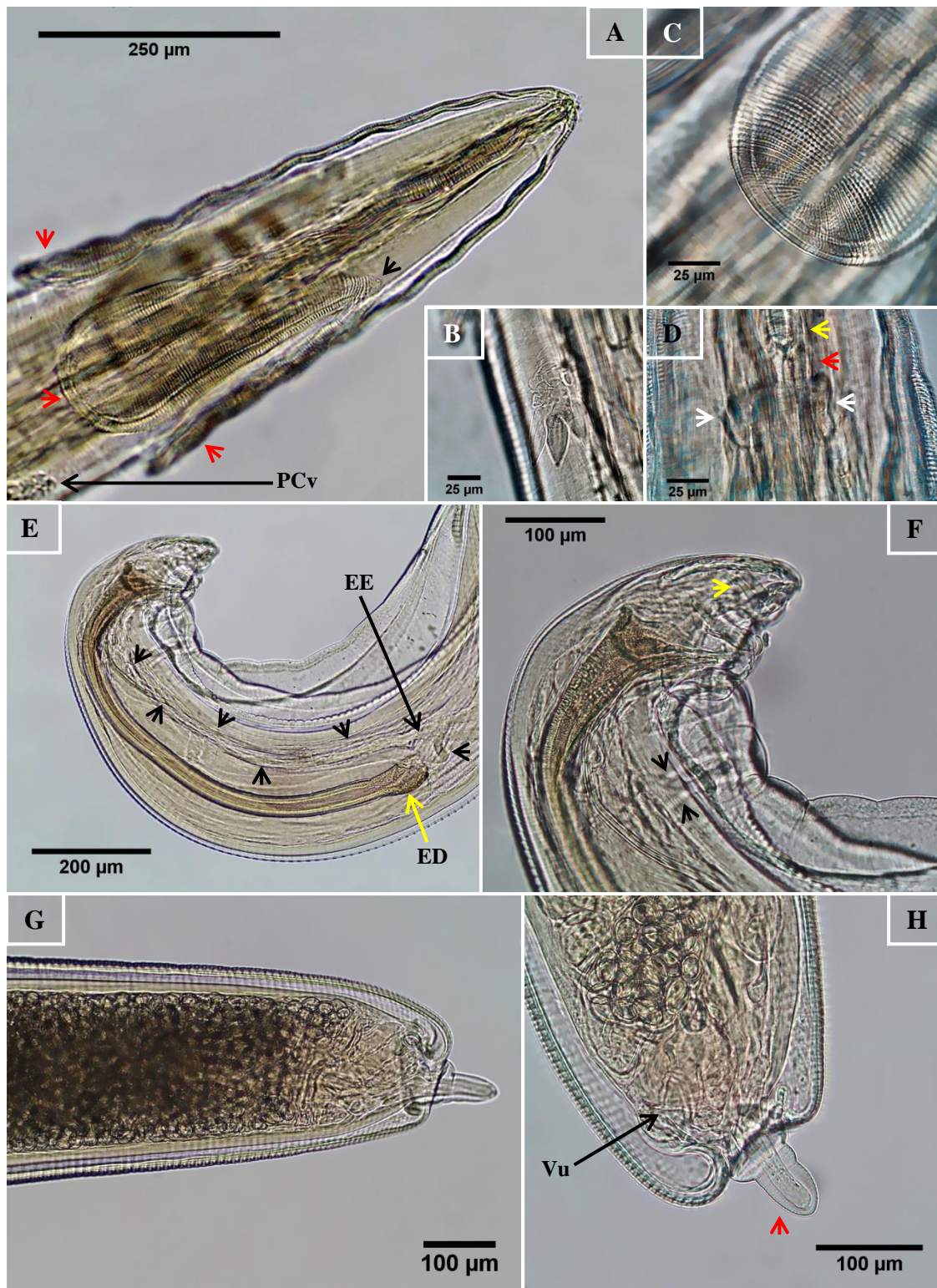
**Figura 52 – Aspectos morfológicos de *Synhimantus (Dispharynx) nasuta*.** A – Região anterior, com quatro cordões (setas vermelhas) desde a abertura oral até meio do esôfago muscular (EM) (vista lateral). B – Região anterior com dois pseudolábios (setas pretas) (vista ventral). C – Região anterior com dois cordões recorrentes não anastomosados visíveis (setas vermelhas) e uma papila cervical (PCv) (vista lateral). D – Papila cervical tricúspide (vista lateral). E – Região anterior com esôfago muscular (EM), esôfago glandular (EG) e as duas papilas cervicais (setas vermelhas) (vista ventral). F – Vulva (Vu) na região média do corpo da fêmea com inúmeros ovos embrionados (vista lateral). G – Região posterior da fêmea com abertura anal (A) (vista lateral). H – Região posterior do macho enrolada, com espícula esquerda (EE: setas brancas) longa e fina, espícula direita (ED: setas amarelas) curta e grossa e papilas caudais (PCd: setas vermelhas) (vista lateral).





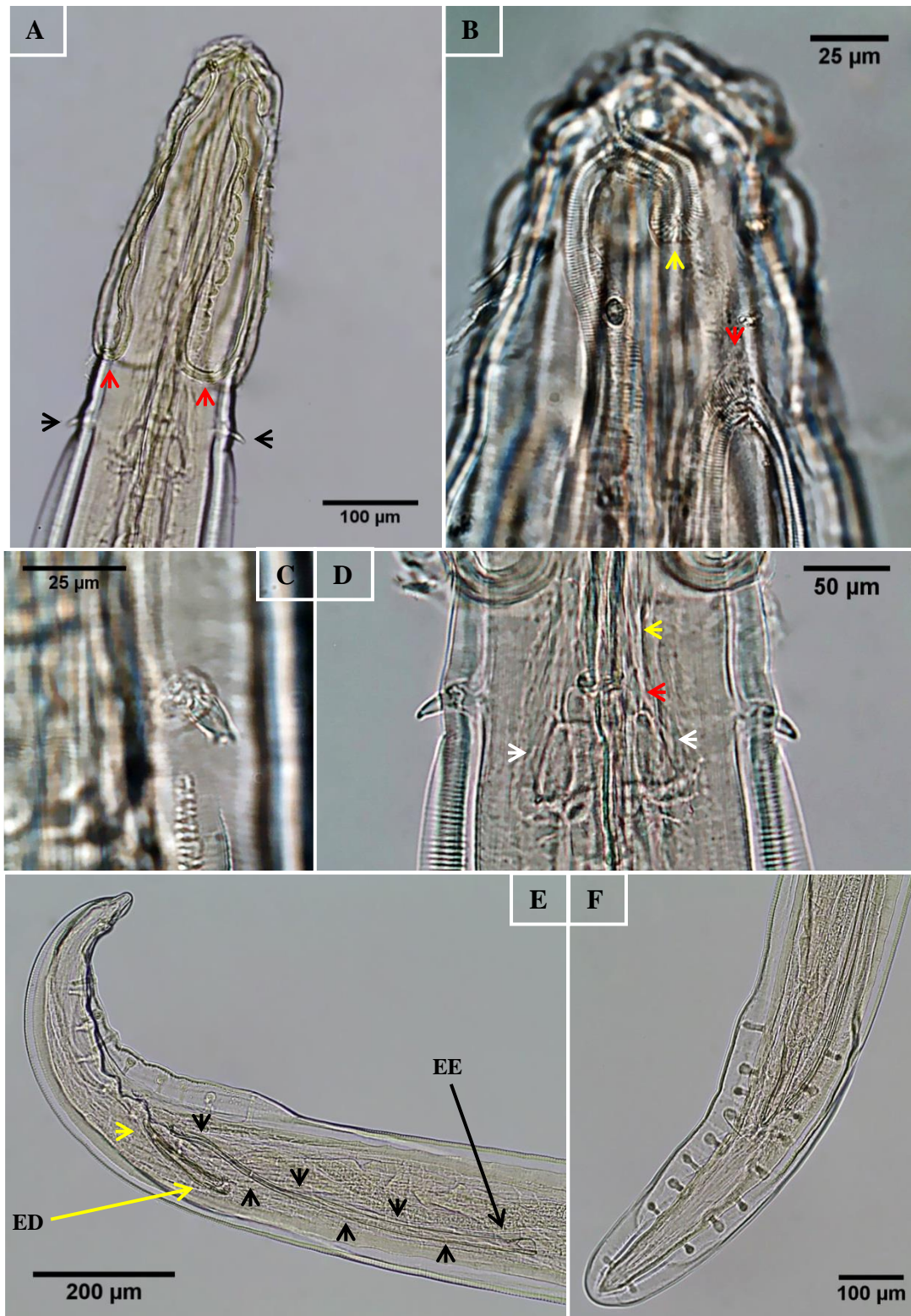
**Figura 53 – Aspectos morfológicos de *Synhimantus (S.) laticeps*.** A – Região anterior, com dois cordões anastomosados visíveis (setas vermelhas) e uma papila cervical (PCv) (vista lateral). B – Região anterior com dois pseudolábios (setas pretas) (vista ventral). C – Região de anastomose de dois cordões recorrentes (seta vermelha) (vista lateral). D – Anel nervoso (setas pretas) posterior à cavidade oral (seta amarela) e na porção inicial do esôfago muscular (seta vermelha) (vista ventral). E – Papila cervical tricúspide (vista lateral). F – Vulva (Vu) na região média do corpo da fêmea com inúmeros ovos embrionados (vista lateral). G – Ovo embrionado. H – Região posterior de fêmea com abertura anal (A) (vista lateral).



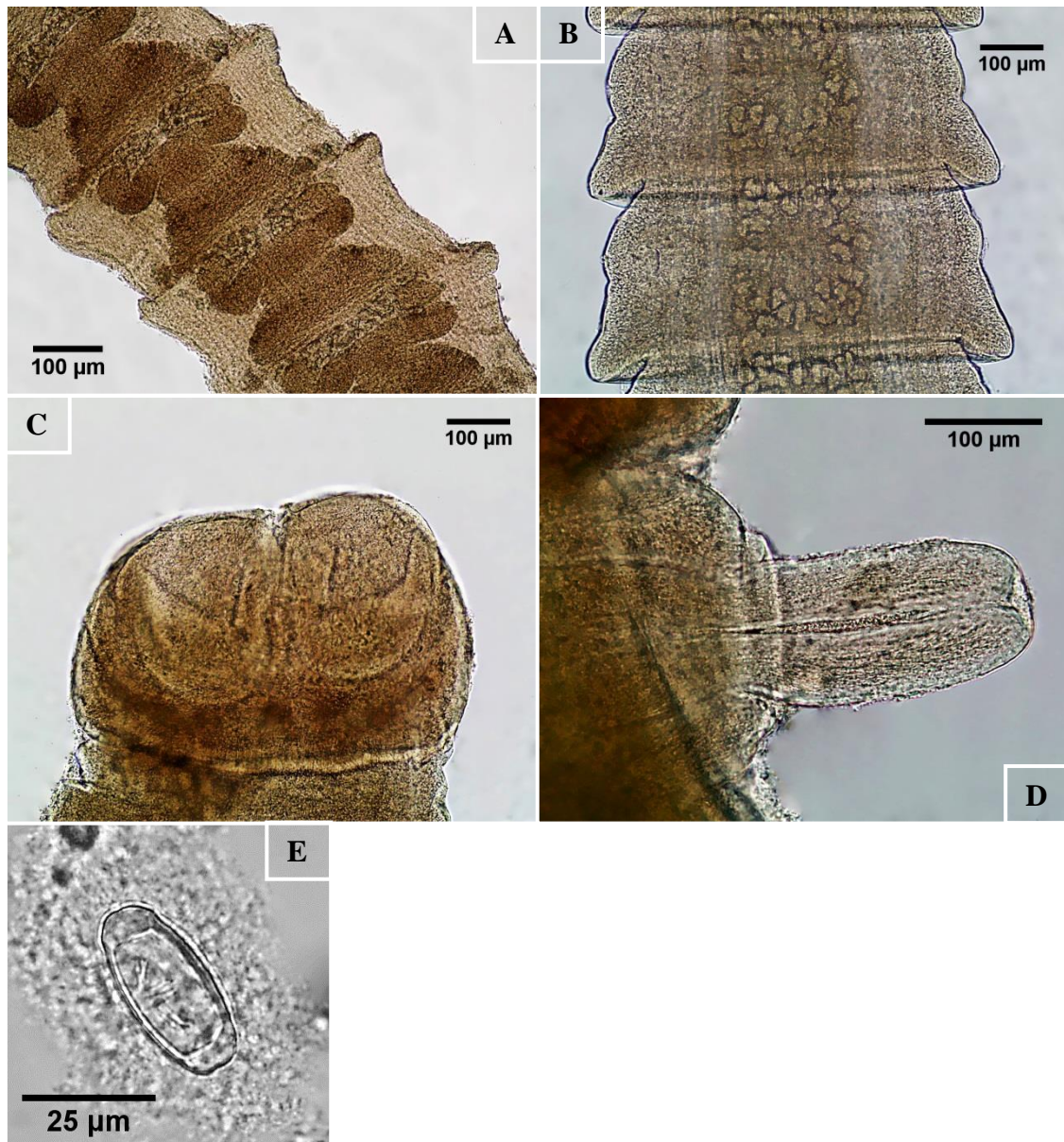


**Figura 54 – Aspectos morfológicos de *Desportesius invaginatus*.** A – Região anterior, com três cordões visíveis (setas vermelhas), sendo que dois se encontram anastomosados (seta preta), e uma papila cervical (PCv) (vista lateral). B – Papila cervical tricúspide (vista lateral). C – Região de recorrência dos cordões (vista lateral). D – Anel nervoso (setas brancas) posterior à cavidade oral (seta amarela) e na porção inicial do esôfago muscular (seta vermelha) (vista ventral). E – Região posterior do macho enrolada, com espícula esquerda (EE: setas pretas) longa e fina, espícula direita (ED: setas amarelas) longa e grossa (vista lateral). F – Papilas précloaca (setas pretas) e pósloaca (seta amarela). G – Região posterior de fêmea com inúmeros ovos embrionados (vista ventral). H – Vulva (Vu) e protuberância na extremidade posterior (seta vermelha) (vista ventral).



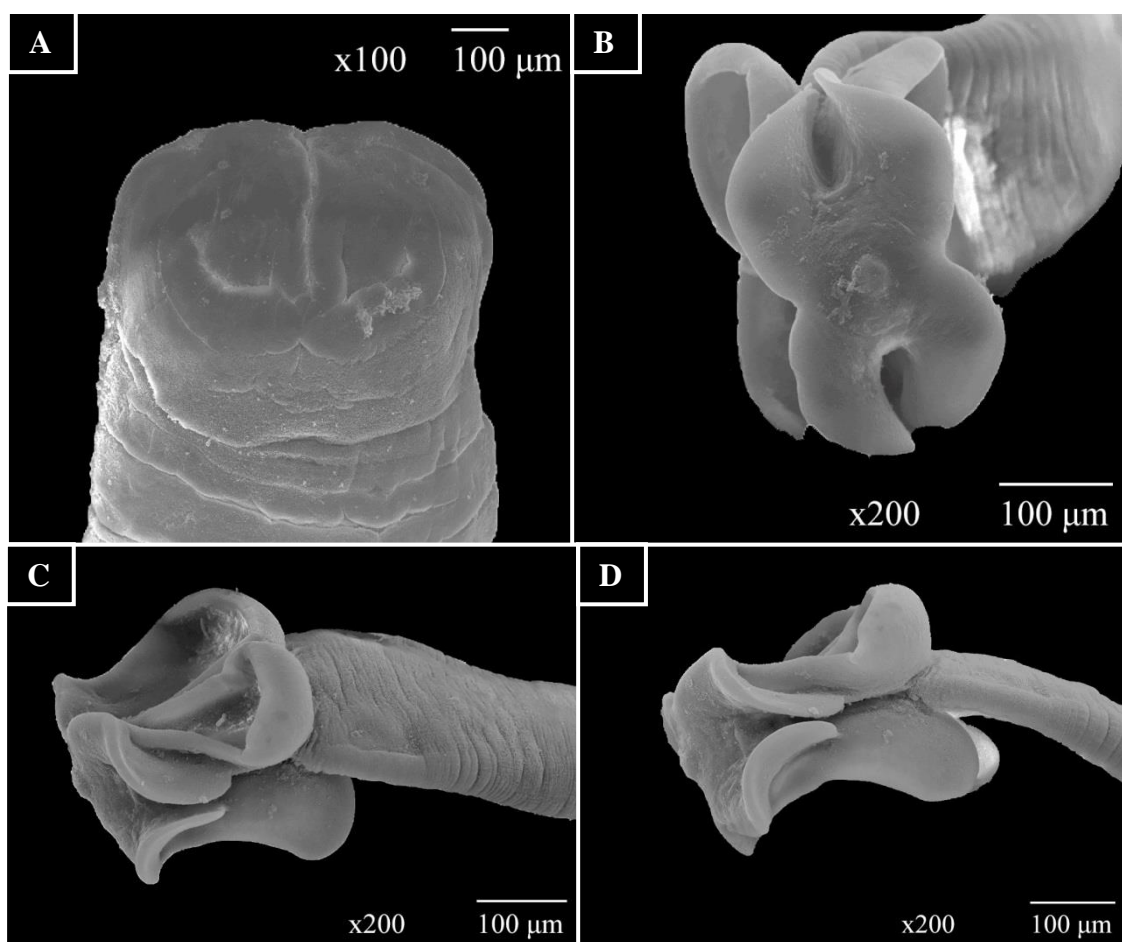


**Figura 55 – Aspectos morfológicos de macho de *Cosmocephalus obvelatus*.** A – Região anterior, com dois cordões visíveis (setas vermelhas) e as duas papilas cervicais (setas pretas) (vista ventral). B – Região sinuosa dos cordões (seta amarela) e região de anastomose (seta vermelha) (vista lateral). C – Papila cervical bicúspide (vista lateral). D – Anel nervoso (setas brancas) posterior à cavidade oral (seta amarela) e na porção inicial do esôfago muscular (seta vermelha) (vista ventral). E – Região posterior do macho enrolada, com espícula esquerda (EE: setas pretas) longa e fina, espícula direita (ED: setas amarelas) curta e grossa (vista lateral). F – Região posterior com nove pares de papilas caudais (vista ventral).



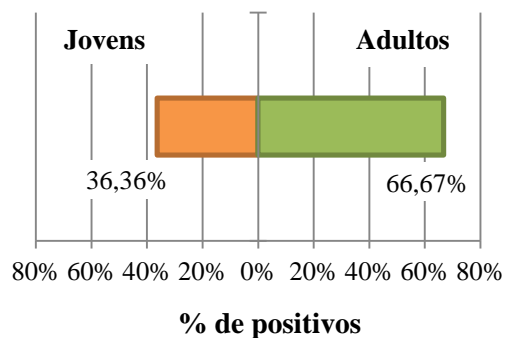
**Figura 56 – Aspectos morfológicos dos céstodes identificados.** A – Proglotes maduros de *Neyraia* sp. (vista dorsal). B – Proglotes maduros de *Tetrabothrius* sp. (vista dorsal). C – Escólex de *Diplophallus* sp. (vista dorsal). D – Cirro de proglote maduro de *Diplophallus* sp. (vista dorsal). E – Ovo embrióforo contendo embrião hexacanto de *Diplophallus* sp.





**Figura 57 – Aspectos morfológicos de escólexes dos céstodes observados por microscopia electrónica de varrimento.** A – Escólex de *Diplophallus* sp. (vista dorsal). B – Escólex de *Tetrabothrius* sp. (vista apical). C – Escólex de *Tetrabothrius* sp. (vista dorsal). D – Escólex de *Tetrabothrius* sp. (vista lateral).

As amostras de helmintos provieram exclusivamente do RIAS, e não foram observadas diferenças estatisticamente significativas na prevalência aparente destes, consoante a idade das aves ( $p>0,05$ ) (Figura 58) e a sua fenologia ( $p>0,05$ ) (Tabela 6).



**Figura 58 – Taxa de prevalência de helmintos, consoante a idade das aves ( $n=20$ ).** Prevalência de infecção por helmintos ( $\chi^2_{(1, 20)}=1,818$ ;  $p=0,185$ )

Nota: Na análise estatística, não foram contabilizadas aves com idade indeterminada ( $n=2$ ).

**Tabela 6 – Prevalência de helmintos, consoante a fenologia das aves.**

Fenologia	n	Parasitados	
		n	%
Residente	13	9	69,23
MLD	8	3	37,50
MCD	1	0	-
<b>Total</b>	<b>22</b>	<b>12</b>	<b>54,55</b>
$\chi^2=3,268$ ; $p=0,192$			

Legenda: MLD – Migrador de Longa distância e MCD – Migrador de Curta distância.



#### 4. Discussão

As aves selvagens, excepto na Antárctida, são consideradas hospedeiros comuns, de hemoprotozoários dos géneros *Haemoproteus*, *Leucocytozoon*, *Plasmodium* (Valkiūnas, 2005) e *Trypanosoma* (Rintamäki & Huhta, 1999). Identificados em 33,59% dos indivíduos, a prevalência de infecção por hemoprotozoários, independentemente do género parasitário, é ligeiramente superior à apresentada nos poucos estudos realizados a nível nacional (Martinho & Melo, 2002; Santos *et al.*, 2008).

A prevalência dos géneros *Haemoproteus* e *Leucocytozoon*, 15,63% e 17,97% respectivamente, corroboram a ideia que estes são os géneros parasitários mais prevalentes em aves selvagens em Portugal (Martinho & Melo, 2002; Santos *et al.*, 2008). Por outro lado, com excepção do trabalho de Norte *et al.* (2009), com registos de parasitismo por *Plasmodium* spp. em *Parus major* (Chapim-real) durante quatro anos consecutivos, poucos são os resultados positivos de *Plasmodium* spp. a nível nacional (Peirce, 1981, Martinho & Melo, 2002), tal como verificado neste trabalho. A baixa prevalência de *Trypanosoma* spp. corrobora o pressuposto enunciado por Bettencourt & França (1907), de serem parasitas pouco identificados em esfregaços sanguíneos, possivelmente por serem subestimados. Segundo Bennett (1962), a centrifugação da amostra para determinação do hematócrito aumenta a precisão de detecção de tripanossomas e microfilárias, pois as formas parasitárias ficam concentradas na coluna de eritrócitos, na região adjacente à coluna de *buffy coat*.

Considerando a ordem das aves, a prevalência de infecção é significativamente mais elevada em rapinas nocturnas, i.e. Strigiformes, (77,78%), indo ao encontro dos trabalhos de Martinho & Melo (2002) e Santos *et al.* (2008), embora estes apresentem valores um pouco inferiores. No mesmo sentido, Krone *et al.* (2001), Viana (2010) e Fromont (1993), em centros de recuperação europeus (alemães, espanhóis e franceses, respectivamente) observaram maior taxa de prevalência (embora com taxas de infecção mais baixas, 43%, 42,9% e 13% respectivamente) em Strigiformes do que em

Falconiformes<sup>1</sup>. Noutro estudo em Espanha, Muñoz *et al.* (1999a) verificaram precisamente o contrário.

No presente trabalho a ordem Strigiformes apresenta igualmente a mais elevada prevalência de *Leucocytozoon* spp. (66,67%), tal como constatado por Muñoz *et al.* (1999a), Santos *et al.* (2008) e Viana (2010), embora com valores dispares, 82,7%, 50,0% e 42,9% respectivamente, mas refuta os resultados de Krone *et al.* (2001) que apontam uma prevalência de *Leucocytozoon* spp. semelhante à de *Haemoproteus* spp..

Como constatado por Bennett *et al.* (1982), Bennett (1993) e Hauptmanová *et al.* (2006), neste trabalho a ordem Passeriformes apresenta a mais elevada prevalência de *Haemoproteus* spp. (37,50%). Por outro lado, Merino *et al.* (1997) identificaram o género *Leucocytozoon* como sendo o mais prevalente nesta ordem.

A existência destas diferenças nas prevalências de infecção entre as ordens de aves, pode ser resultado: da especificidade dos hospedeiros, de diferenças nas exigências ambientais dos vectores e de diferenças na exposição das aves a estes. Essa exposição pode depender do período de actividade, do habitat, comportamento trófico, etc (Hauptmanová *et al.*, 2006). Neste caso a elevada taxa de prevalência de *Leucocytozoon* spp. em Strigiformes e de *Haemoproteus* spp. em Passeriformes pode estar relacionada com questões ecológicas da ave e dos vectores, nomeadamente com os períodos de actividade e habitats.

No caso da infecção por *Leucocytozoon* spp., o período de menor actividade das rapinas nocturnas, i.e. Strigiformes, período diurno, coincide com o período de maior actividade dos simulídeos, assim como o habitat ocupado por estas rapinas (zonas de montanha arborizadas, com cursos de água, nidificando em buracos de árvores e edifícios em ruínas), coincide com o habitat de eleição destes vectores (pedras ou vegetação submersas ou à superfície da água, para oviposição, e árvores e arbustos para repouso) (Fallis *et al.* 1974, Lehane 2008). No caso de Passeriformes, o período de inactividade destas aves, período nocturno, coincide com o período de actividade dos culicídeos (principais vectores de *Haemoproteus* spp.), assim como o habitat ocupado

---

<sup>1</sup> A ordem dos Falconiformes assumida nos estudos anteriores ao ano de 2008, contempla duas famílias, nomeadamente Falconidae e Accipitridae, sendo a última que apresenta maior prevalência de hemoparasitas. Desde 2008 que a família Accipitridae, é inserida na ordem dos Accipitriformes, como ocorre neste trabalho.



por estas aves no PNRF (tendo em conta que estas aves provieram apenas de anilhagem neste local), é constituído por uma zona plana arborizada, com salinas, lagoas de água doce e salobra tendencialmente pantanosas, coincidindo com o habitat de eleição destes vectores, buracos de árvores e matéria orgânica em decomposição, durante a vida adulta, próximos de substratos húmicos, com corpos de água doce ou salgada, para oviposição (Lehane, 2008). Em ambos os casos a sobreposição destas características entre aves e vectores, aumenta o possível contacto entre eles, possibilitando a transmissão de hemoparasitas.

Curiosamente a ordem Accipitriformes apresenta diferenças significativas na prevalência de infecção, sendo o Grifo, a única espécie não parasitada, corroborando a informação relatada por outros autores, da ausência de hemoparasitas nesta ave em Portugal e Espanha (Blanco *et al.*, 1998; Muñoz *et al.*, 1999; Santos *et al.*, 2008; Viana, 2010). Segundo Blanco *et al.* (1998), uma boa justificação para isto, é o facto de esta espécie habitar sobretudo zonas de encostas íngremes caracterizadas por ventos fortes, o que dificulta o acesso por parte dos vectores. Mesmo correndo o risco de serem infectados nos locais de alimentação, o facto de estas aves ao ingressarem em centros de recuperação estarem amplamente parasitadas por artrópodes não voadores mas não por hemoparasitas, poderá indicar que o seu comportamento impossibilita o contacto com vectores transmissores de hemoparasitas (Blanco *et al.* 1998), ou que a infecção ocorreu há pouco tempo e ainda não há parasitémia.

Além disso, os hábitos alimentares destas aves (Tabela 1), baseados em cadáveres em decomposição, segundo Blanco *et al.* (1998) poderão também ter levado ao desenvolvimento de um sistema imunológico altamente eficiente, característico de animais necrófagos. Contudo tendo sido identificado neste trabalho *Leucocytozoon* spp. num Abutre-preto (*Aegypius monachus*) e sendo esta ave igualmente necrófaga, a hipótese do sistema imunitário “supercompetente”, avançada por Blanco *et al.* (1998), parece não se aplicar a esta ave em concreto. No entanto não dispomos de mais elementos sobre o seu estado de saúde para tirar ilações. No caso desta ave por ter um habitat distinto do Grifo (Tabela 1), terrenos abertos de montado, colinas e montanhas com zonas arborizadas, pode potenciar o contacto com vectores de hemoparasitas, neste caso simulídeos, presentes nestes habitats.

Os resultados relativos à proveniência das amostras corroboram a ideia de que há um decréscimo de infecção por hemoparasitas, sobretudo de *Leucocytozoon* spp., de Norte (localização do CERVAS) para Sul (localização do RIAS e PNRF) do continente

Europeu (Peirce, 1981; Martinho & Melo, 2002; Santos *et al.*, 2008). Isto pode ser explicado pelas exigências de habitat dos simulídeos, vectores do género *Leucocytozoon*, favoráveis a Norte pela existência de mais zonas de montanha florestadas com cursos de água corrente (Peirce, 1981; Scheuerlein & Ricklefs, 2004). O mesmo não se aplica ao género *Haemoproteus*, dada a ubiquidade dos vectores deste hemoparasita (Valkiūnas, 2005). As diferenças verificadas na prevalência de infecção, independentemente do género parasitário, e de *Leucocytozoon* spp. entre as aves amostradas no CERVAS (Norte) e no RIAS (Sul), é igualmente explicado pelas diferentes exigências de habitat dos vectores.

As diferenças significativas identificadas na prevalência de infecção de *Haemoproteus* spp. entre as amostras de aves anilhadas e do RIAS, poderá advir do facto de 66,10% das amostras de anilhagem corresponderem a Passeriformes, que por sinal é a ordem amostrada, mais parasitada por este hemoprotozoário. Contudo é de notar que estas aves, no PNRH habitam zonas favoráveis à ocorrência de culicídeos. Pelo contrário, considerando que a maioria das amostras provenientes do RIAS, pertencem a aves marinhas, a baixa prevalência de hemoparasitas é expectável, com base na ideia de que estas aves geralmente só são expostas aos vectores de hemoprotozoários quando recorrem a habitats de água doce, nos locais de invernada, como é a Ria Formosa, mas nessa época do ano os vectores de hemoparasitas são menos frequentes (Valkiūnas, 2005; Yohannes *et al.*, 2008).

Considerando a disparidade de ordens de aves amostradas no CERVAS, RIAS e sessões de anilhagem científica, poder-se-ia suspeitar da influência destas nas diferenças verificadas na prevalência de infecção consoante a proveniência das amostras, contudo essas diferenças de ordens não são um viés estatístico.

No que respeita à prevalência de infecção entre as duas classes etárias, só na infecção por *Leucocytozoon* spp. se observaram diferenças, sendo mais evidentes em aves adultas. Este padrão é consistente com os registos de Fallis *et al.* (1974), Ashford *et al.* (1990), Krone *et al.* (2001) e Tomé *et al.* (2005) e normalmente é associado à ausência de simulídeos junto dos ninhos durante a época de nidificação e/ou a um maior período de exposição das aves adultas, aos vectores, ao longo da vida.

Peirce & Mead (1978) consideram que as aves europeias são maioritariamente hemoparasitadas durante a migração de Inverno em África uma vez que ao regressarem à Europa apresentam maior taxa de infecção. Segundo estes autores os hemoparasitas transportados por aves migratórias, poderão também ser mais patogénicos para aves

residentes. Os resultados deste trabalho não confirmam essa hipótese, mas sugerem maior prevalência de infecção, independentemente do género de hemoparasita e no caso de *Haemoproteus* spp., de aves que ocorrem em solo nacional como migradoras ou residentes. Nesse sentido nunca se poderá assumir qual o estatuto fenológico correcto de cada indivíduo incluído nesta classe, impossibilitando neste modo retirar qualquer conclusão do impacto da fenologia na prevalência de hemoparasitas.

A prevalência de aves parasitadas por malófagos (21,31%), é ligeiramente inferior à apresentada noutros estudos a nível europeu (Pérez *et al.*, 1996; Dik *et al.*, 2011). Isto poderá ser explicado pela humidade relativa existente nos meses dos locais de amostragem, uma vez que a humidade condiciona a prevalência de malófagos (Johnson and Clayton 2003).

Neste estudo, foram identificadas 12 espécies da subordem Amblycera (*Actornithophilus piceus lari*, *Actornithophilus umbrinus*, *Austromenopon lutescens*, *Colpocephalum heterossoma*, *Colpocephalum turbinatum*, *Eidmanniella pustulosa*, *Laemobothrion maximum*, *Laemobothrion vulturis*, *Nosopon casteli*, *Pseudomenopon pilosum*, *Trinoton femoratum*, *Trinoton querquedulae*) e 6 da subordem Ischnocera (*Craspedorrhynchus platystomus*, *Degeeriella fulva*, *Falcolipeurus quadripustulatus*, *Luniceps schismatus*, *Pectinopygus bassani*, *Strigiphilus* sp.), com a primeira a ser mais comum nas aves estudadas, não se confirmando a pressuposto de que a subordem Ischnocera é a mais comum em aves (Price *et al.* 2003). A maioria das espécies de malófagos foi identificada em apenas uma espécie de hospedeiro, com excepção do malófago *Degeeriella fulva*, identificado em dois Accipitriformes, nomeadamente numa Águia-de-Bonelli (*Aquila fasciata*) e numa Águia-d'asa-redonda (*Buteo buteo*).

Caracterizados pela sua alta especificidade para o hospedeiro, embora Pilgrim & Palma (1982) alertem para o facto da manipulação humana poder resultar na identificação de associações incomuns entre malófagos e aves, fenómeno denominado de contaminação, todas as associações parasita-hospedeiro identificadas neste trabalho já se encontravam revistas por Price *et al.* (2003). Mesmo considerando esta especificidade e as espécies comumente identificadas no Bufo-real (*Bubo bubo*), *S. goniodicerus* (Eichler, 1949) e *S. strigis* (Pontoppidan, 1763) a ausência de espécimes machos ou fêmeas de *Strigiphilus* sp., impossibilitou a identificação do malófago recolhido (Price *et al.*, 2003).

Considerando a prevalência de malófagos consoante a ordem das aves, a ausência de malófagos em Passeriformes é possivelmente o resultado menos espectacular,

considerando o número elevado de aves analisadas e os malófagos comumente identificados nestas (Price *et al.* 2003, Açici *et al.* 2011). Contudo tal facto pode ser explicado pela: i) conduta social, i.e., uma vez que a forma de transmissão de malófagos requer contacto entre hospedeiros parasitados e estas aves são geralmente solitárias, é necessário que os progenitores ou um dos membros do casal estejam infectados, para que seja possível a transmissão; ii) dimensão do corpo, comparativamente com aves de grande porte, as aves pequenas oferecem menos locais de refúgio para malófagos na plumagem, aumentando o sucesso do *preening* e contribuindo para maior controlo de malófagos (Rózsa 1997). O facto de existirem diferenças na prevalência de ectoparasitas entre as amostras do RIAS e da anilhagem científica, poderá advir do facto de 66,10% das amostras de anilhagem corresponderem a Passeriformes e como dito anteriormente esta ordem apresentou total ausência de malófagos.

Como observado em Espanha, por Pérez *et al.* (1996), não foram verificadas diferenças estatisticamente significativas entre aves jovens e adultas. Este resultado poderá advir da: i) época de amostragem, uma vez que esta, é a época posterior à época de nidificação e nesta a transmissão de malófagos é facilitada pelo contacto entre casais e entre estes e as suas crias; ii) excelente adaptação dos malófagos de evitar o processo de *preening*, ou seja, normalmente as aves selvagens a partir do momento que são parasitadas, ficam parasitadas por malófagos para o resto da vida (Hillgarth, 1996; Tompkins *et al.*, 1996; Johnson & Clayton, 2003). Considerando essa adaptação, alguns malófagos podem ser incorporados nas categorias: i) Amblycera ágeis, efectuem movimentos rápidos entre pele e penas; ii) Amblycera de “grandes” dimensões, deslizam lateralmente entre as penas; iii) Ischnocera lentos, de cabeça triangular, habitam principalmente cabeça e pescoço; iv) Ischnocera alongados, escondem-se entre as barbas das penas da cauda e asas; v) Ischnocera lentos, alojam-se nas regiões de plumagem densa do pescoço e abdómen (Johnson & Clayton, 2003).

Considerando que as colónias poderão ser constituídas por milhares de indivíduos, como por exemplo ocorre com o Ganso-patola (*Morus bassanus*), a conduta social das aves aparenta ser um factor relevante na transmissão de malófagos, como mencionado por Harold (1928) e Rózsa *et al.* (1996). Os resultados sugerem que aves tendencialmente coloniais aparentam maior prevalência de malófagos, uma vez que o contacto recorrente entre os indivíduos das colónias, facilitam a sua transmissão. Do mesmo ponto de vista, a elevada prevalência de malófagos em aves migratórias de longa distância, sugere que estas aves poderão adquirir malófagos nos locais de nidificação.

Assim sendo as aves migratórias infestadas por malófagos poderão tornar-se um veículo de dispersão destes, caso mantenham contacto com aves residentes, principalmente nos locais de alimentação e abrigo.

Apesar das 4000 espécies de malófagos de aves registadas mundialmente a ausência de estudos relativos à prevalência destes ectoparasitas em Portugal, leva a afirmar que todas as espécies de malófagos identificadas neste trabalho (19 espécies), são relatadas pela primeira vez na fauna ectoparasitológica nacional.

Os ácaros da família Alloptidae, à qual pertence o ácaro *Alloptes calidridis* identificado num Pilrito-comum (*Calidris alpina*), são ectoparasitas comuns de aves associadas a habitats marinhos e de água doce, incluindo a ordem Charadriiformes, na qual se insere esta ave (Vasyukova & Mironov, 1991). Os registos deste género são muito escassos, estando presentes, no continente Europeu, nomeadamente na Rússia (região siberiana), onde esta ave nidifica, e no continente Africano, onde esta ave inverte (Gaud, 1972; Vasyukova & Mironov, 1991). A ausência de estudos direccionados para a pesquisa de ácaros em aves selvagens, leva a afirmar que este resultado poderá corresponder ao primeiro registo a nível nacional do ácaro *Alloptes calidridis*. Considerando a Península Ibérica, um local de passagem obrigatória para Pilritos-comuns em migração, entre o Norte da Europa e o continente africano, a ausência de registos possivelmente advém da inexistência de estudos, uma vez que estes ácaros são relativamente comuns nas penas de cobertura superiores e inferiores das asas, e mais raramente nas penas de voo (rémiges e rectrizes) aves (Vasyukova & Mironov, 1991; Dabert & Mironov, 1999).

Apesar da diversidade faunística de artrópodes, incluindo coleópteros, identificada por Dražina & Špoljar (2009), nos ninhos de Grifos na Croácia, não identificaram exemplares da família Ptiliidae. Os Ptilídeos são considerados os coleópteros mais pequenos que se conhecem, ocupando uma diversidade de habitats húmidos e em decomposição, onde se alimentam sobretudo de fungos (Majka & Sorensson, 2010). A sobreposição dos hábitos alimentares de Grifos (*Gyps fulvus*) (Tabela 1) com habitat de Ptilídeos, justificam a identificação dos coleópteros da Tribo Ptiliini, sendo este possivelmente o primeiro registo mundial destes coleópteros presentes nas penas de *Gyps fulvus*. Considerando que esta ave efectua migrações de longa distância, a propagação intercontinental destes ectoparasitas é uma possibilidade.

Neste estudo a prevalência de aves selvagens parasitadas por helmintos é de 54,55%. Comparativamente com estudos internacionais (dada a ausência de estudos em

Portugal), esta prevalência de infecção é relativamente inferior, contudo, a maioria dos estudos abordam ordens ou espécies de aves específicas (Ferrer *et al.*, 2004; Santoro *et al.*, 2011). Não se observaram diferenças significativas na prevalência de helmintes, consoante as ordens, idade e fenologia das aves, possivelmente em resultado do baixo número de aves amostradas.

Considerando o facto da infecção por helmintes por parte das aves ser feita através da ingestão de alimento, a dieta das aves, nomeadamente a selectividade de presas que servem de hospedeiros intermediários ao desenvolvimento dos parasitas, e os habitats envolventes, que influenciam a sobrevivência e o potencial de transmissão dos parasitas, são considerados os factores, intrínseco e extrínseco, respectivamente, responsáveis pelos padrões das comunidades de helmintes de aves (Poulin, 1997).

Os spirurídeos *Synhimantus* (S.) *laticeps* e *Synhimantus* (*Dispharynx*) *nasuta*, respectivamente identificados na moela de um Peneireiro-cinzento (*Elanus caeruleus*) e esófago e proventrículo de Mochos-galegos (*Athene noctua*), são parasitas comuns de aves de rapina (Santoro *et al.*, 2012). A transmissão de *Synhimantus* (S.) *laticeps*, à rapina diurna poderá ter ocorrido pela ingestão de lagartos (HP), pois são incluídos na dieta desta ave, ao contrário de isópodes (HI). Por outro lado a transmissão de *Synhimantus* (*Dispharynx*) *nasuta* às rapinas nocturnas poderá ter ocorrido pela ingestão de isópodes terrestres (HI), uma vez que não estão descritos mais HI e/ou HP deste parasita (Anderson, 2000; Perera *et al.*, 2013). Em países mediterrânicos, como Espanha e Itália, Gomez *et al.* (1993) e Santoro *et al.* (2012), respectivamente, já tinham relatado infecções semelhantes em Mochos-galegos, enquanto o único registo de *Synhimantus* (S.) *laticeps* no Accipitriforme Peneireiro-cinzento, provém da Argélia (Seurat, 1919).

No caso das aves Charadriiformes parasitadas, nomeadamente Gaivota-de-patas-amarelas (*Larus michahellis*), Gaivota-d'asa-escura (*Larus fuscus*) e Pernilongo (*Hymantopus hymantopus*), a transmissão dos parasitas a estas depende de HI e/ou HP com características aquáticas, dos quais estas aves se alimentam, nomeadamente anfípodes (HI) e peixes (HP), no caso da infecção de Gaivota-de-patas-amarelas por *Cosmocephalus obvelatus*, de crustáceos (HI) e teleósteos (HI) no caso da infecção de Gaivota-d'asa-escura por *Tetrabothrius* sp. e de larvas de insectos (HI), crustáceos (HI) ou anelídeos (HI), no caso da infecção de Pernilongo por *Diplophallus* sp. (Anderson, 2000; McLaughlin, 2008).

Os helmintes *Cosmocephalus obvelatus* e *Tetrabothrius* sp., respectivamente identificados no proventrículo de uma Gaivota-de-patas-amarelas e intestino grosso de

uma Gaivota-d'asa-escura, são parasitas muito comuns de aves da família Laridae (Sanmartín *et al.*, 2005; Alvarez *et al.*, 2006; Santoro *et al.*, 2011). Em Espanha Alvarez *et al.* (2006) constataram elevada prevalência de *Cosmocephalus obvelatus* em *Larus michahells*. No Atlântico Norte as espécies do género *Tetrabothrius* comumente identificadas, são *T. cylindraceus* e *T. erostris*, contudo apenas a última foi identificada em *Larus fuscus*, por Pemberton (1963) no Reino Unido e por Galkin *et al.* (1994) na Rússia. No caso do ciclofilídeo *Diplophallus* sp. identificado no intestino grosso de um Pernilongo, é um parasita comum da Família Recurvirostridae, com alguns registos a nível europeu (Burt, 1980).

Identificados na moela de Garças-boieiras, os spirurídeos *Desportesius invaginatus*, poderão ter sido transmitidos às aves pela ingestão de insectos e crustáceos (HI) ou anfíbios (HP), uma vez que ambos são incluídos na dieta desta ave (Anderson 2000). Comum em Pelecaniformes, este parasita, já foi igualmente identificado neste hospedeiro no Egipto, Índia e Taiwan e noutros hospedeiros desta ordem em França e Estados Unidos da América (Wong & Anderson, 1986).

A transmissão do céstode *Neyraia* sp., identificado no intestino grosso duma Poupa (*Upupa epops*), deverá ter ocorrido pela ingestão de insectos (HI), uma vez que estes são base da dieta deste Bucerotiforme (McLaughlin, 2008). A nível europeu este género parasitário neste hospedeiro já foi relatado em Espanha e França, contudo também já foi identificado na Índia, Egipto e África do Sul (Mahon, 1958; Cordero del Campillo, 1980; Sonune, 2012).

Identificado no intestino grosso de Águia-de-Bonelli (*Aquila fasciata*), a transmissão do ascarídeo *Porrocaecum* sp. deverá ter ocorrido pela ingestão de micromamíferos (HP), uma vez que oligoquetas (HI) não fazem parte da dieta desta ave (Fagerholm & Overstreet, 2008). Embora seja bastante comum em aves de rapina, a associação parasita-hospedeiro observada, não se encontra descrita na literatura.

A infecção do Ganso-patola (*Morus bassanus*), pelo anisquídeo do género *Contracaecum* deverá ter ocorrido pela ingestão de peixe, HP, considerando que esta ave é exclusivamente piscívora (Fagerholm & Overstreet, 2008). Forrester & Spalding (2003) já mencionaram essa associação parasita-hospedeiro nos Estados Unidos da América, e além deste hospedeiro, em aves piscívoras filogeneticamente próximas de *M. bassanus*, nomeadamente *Sula leucogaster*, no Brasil, Silva *et al.* (2005) identificaram *Contracaecum pelagicum*.

A ausência de exemplares machos das amostras de *Contracaecum* sp. e *Porrocaecum* sp., impossibilitou a identificação ao nível da espécie, uma vez que a diferenciação destas é feita com base na dimensão das espículas e no número e padrão de distribuição das papilas caudais dos machos (Fagerholm, 1991). No caso dos céstodes *Neyraia* sp., *Tetrabothrius* sp. e *Diplophallus* sp. a inviabilidade de algumas estruturas da amostra, nomeadamente proglotes, impossibilitou a identificação ao nível da espécie.

Com base nos hábitos alimentares das aves e no ciclo de vida dos parasitas, todas as associações parasita-hospedeiro identificadas neste trabalho são possíveis e já se encontram descritas na literatura internacional, com excepção do género *Porrocaecum* identificado numa Águia-de-Bonelli (*Aquila fasciata*). Com excepção do género *Tetrabothrius* já indentificado em *Morus bassanus* em Portugal (Mendes *et al.*, 2013), todos os helmintes são identificados pela primeira vez na fauna parasitológica nacional.



## 5. Conclusões e perspectivas futuras

Considerando a escassez de estudos sobre a ocorrência e distribuição de hemoparasitas, ectoparasitas e helmintes de aves selvagens em Portugal, os resultados reportados neste estudo contribuem de forma inequívoca, para uma visão alargada sobre a infecção/infestação de aves por estes parasitas. Para além disso, ao que se sabe, foram identificados pela primeira vez a nível mundial, um ptílídeo, num Grifo (*Gyps fulvus*) e o nemátode *Porrocaecum* spp. numa Águia-de-Bonelli (*Aquila fasciata*), e pela primeira vez em Portugal, o ácaro *Alloptes calidridis*, num Pilrito-comum (*Calidris alpina*) bem como todas as espécies de malófagos e helmintes (com excepção do céstode *Tetrabothrius*). Contudo por ser um país de passagem e possível paragem para aves durante os movimentos migratórios, estes resultados serão a ponta do iceberg e provavelmente muitas mais espécies de malófagos e helmintes, continuam por identificar na fauna parasitológica portuguesa.

Dada a riqueza de espécies de aves amostradas (39 espécies) e os grupos parasitários abordados, os resultados de hemoparasitas, ectoparasitas e helmintes apresentam grandes variações intra e interespecífica e entre ordens de aves. Além dessa variação, características como a idade, habitat, fenologia, conduta social, dieta, e latitude, poderão ser responsáveis por variações consideráveis na prevalência de infecção/infestação.

A elevada prevalência de infecção por hemoparasitas, apresentada neste trabalho, poderia levar a afirmar que estes constituem uma ameaça à sobrevivência das aves, no entanto os animais não apresentavam sinais clínicos, corroborando a ideia de que estes agentes apresentam baixa patogenicidade e não constituem mau prognóstico para aves. Os animais parasitados por helmintes e malófagos, encontravam-se igualmente sem sinais clínicos, partilhando a ideia de que estes parasitas são relativamente pouco patogénicos. Contudo a dispersão intercontinental de parasitas é uma possibilidade, colocando as aves residentes expostas a novos agentes infecciosos.

Com excepção do anisquídeo *Contracaecum* spp., nomeadamente *C. osculatum*, já relatado em infecções humanas no Japão, nenhum dos restantes parasitas identificados, apresentam potencial impacto em Saúde Pública (Nagasawa, 2012). O Homem, tal como as aves, aparenta ser parasitado pela ingestão de peixes (HP) contendo larvas L3 enquistadas, contudo raramente este parasita tem sido associado a doença humana (Adams *et al.*, 1997). Com raros registos em humanos,

podemos concluir que os parasitas de aves amostrados têm uma importância residual em Saúde Pública.

Contudo o estudo parasitológico de aves selvagens são relevantes não apenas na identificação parasitária e do seu impacto nestas aves, mas ainda na averiguação destes parasitas como: i) parasitas com potencial patogénico para animais domésticos e de cativeiro – por exemplo infecções de *Leucocytozoon* spp., podem colocar em causa grandes colecções zoológicas (Forrester & Greiner, 2008); ii) parasitas com importância em Saúde Pública, como *Cryptosporidium parvum*, uma vez que as aves são veiculadoras de oocistos deste protozoário com potencial zoonótico (Lindsay & Blagburn, 2008); iii) parasitas bioindicadores de poluição marítima por metais pesados (Mendes *et al.*, 2013).

Em trabalhos futuros e de forma a tornar os resultados de algumas variáveis mais fidedignos sugere-se: i) amostrar os mesmos grupos de parasitas em todos locais; ii) amostrar em mais centros de recuperação de animais selvagens nacionais, de forma a melhorar a percepção da prevalência de parasitas em território nacional e aferir diferenças consoante a latitude de proveniência das amostras; iii) obter amostras de sessões de anilhagem científica de aves de outros locais; iv) realizar duas épocas de amostragem, correspondentes às épocas de migração (Agosto-Outubro e Março-Maio), de preferência durante 2/3 anos consecutivos, de forma a compreender qual local mais provável de transmissão de hemoparasitas e ectoparasitas; v) utilizar técnicas de PCR para sexagem das aves de forma a aferir a possível interferência desta variável na prevalência de parasitas; vi) utilizar técnicas de PCR como ferramenta de auxílio na identificação de hemoparasitas e helmintes; vii) utilizar técnicas apropriadas para a pesquisa de ácaros.

## 6. Referências bibliográficas

- Açici, M., Adam, C., Gürler, A., Erciyas, K., Bölükbaş, C. & Umur, Ş. (2011). Chewing Lice (Phthiraptera: Amblycera, Ischnocera) From Some Wild Birds in the Kizilirmak Delta (Turkey). *Travaux Du Muséum National d'Histoire Naturelle "Grigore Antipa"*, 54(2), 395–407. doi:10.2478/v10191-011-0025-z
- Adams, A., Murrell, K. & Cross, J. (1997). Parasites of fish and risks to public health. *Revue Scientifique et Technique (International Office of Epizootics)*, 16(2), 652–660.
- Ahmed, F. E. & Mohammed, A.-H. H. (1978). *Haemoproteus columbae*: Course of infection, relapse and immunity to reinfection in the pigeon. *Zeitschrift Für Parasitenkunde Parasitology Research*, 57(3), 229–236. doi:10.1007/BF00928036
- Alvarez, M. F., Cordeiro, J. A., Leiro, J. M. & Sanmartín, M. L. (2006). Influence of host age and sex on the helminth fauna of the yellow-legged gull (*Larus michahellis*) in Galicia (northwestern Spain). *The Journal of Parasitology*, 92(3), 454–8. doi:10.1645/GE-3546.1
- Amato, J. & Amato, S. (2010). Técnicas gerais para coleta e preparação de helmintos endoparasitos de aves. In S. Von Matter, F. C. Straube, I. Accordi, V. Piacentini, & J. F. Cândido-jr. (Eds.), *Ornitologia e conservação: ciência aplicada, técnicas de pesquisa e levantamento* (1st Ed., pp. 369–393). Rio de Janeiro: Technical Books.
- Andersen, K. & Lysfjord, S. (1982). The functional morphology of the scolex of two *Tetrabothrius* Rudolphi 1819 species (Cestoda; Tetrabothriidae) from penguins. *Zeitschrift Für Parasitenkunde*, 67(3), 299–307. doi:10.1007/BF00927665
- Anderson, R. (2000). Nematode parasites of vertebrates: their development and transmission. (R. Anderson, Ed.) (2nd Ed., p. 650). Wallingford: CABI Publishing.
- Ashford, R. W., Wyllie, I. & Newton, I. (1990). *Leucocytozoon toddi* in British sparrowhawks *Accipiter nisus*: observations on the dynamics of infection. *Journal of Natural History*, 24(5), 1101–1107. doi:10.1080/00222939000770691
- Atkinson, C. T. (2008a). *Haemoproteus*. In N. J. Thomas, D. B. Hunter, & C. T. Atkinson (Eds.), *Parasitic Diseases of Wild Birds* (1st Ed., pp. 13–34). Iowa, EUA: Wiley-Blackwell.
- Atkinson, C. T. (2008b). Avian Malaria. In N. J. Thomas, D. B. Hunter, & C. T. Atkinson (Eds.), *Parasitic Diseases of Wild Birds* (1st Ed., pp. 35–53). Iowa, EUA: Wiley-Blackwell.
- Atkinson, C. T. & Forrester, D. J. (1987). Myopathy Associated with Megaloschizonts of *Haemoproteus meleagridis* in a Wild Turkey from Florida. *Journal of Wildlife Diseases*, 23(3), 495–498. doi:10.7589/0090-3558-23.3.495 23: 495–498.
- Atkinson, C. T., Forrester, D. J. & Greiner, E. C. (1988). Pathogenicity of *Haemoproteus meleagridis* (Haemosporina: Haemoproteidae) in Experimentally Infected Domestic Turkeys. *The Journal of Parasitology*, 74(2), 228. doi:10.2307/3282448

- Bailey, T. A. 2007. Capture and handling. In J. Samour (Ed.), *Avian Medicine* (2nd Ed., pp. 1–14). St. Louis: Mosby.
- Bairlein, F., Berthold, P., Dhondt, A., Jenni, L., Peach, W., Spina, F. & Wassenaar, R. (1995). *A anilhagem de aves na investigação científica e na gestão ambiental*. (M. Silva, Ed.) (Ed. Portug., p. 25). Lisboa: Centro de Estudos de Migração e Protecção das Aves (CEMPA)-Instituto da Conservação da Natureza (ICN).
- Bartlett, C. M. (1993). Lice (Amblycera and Ischnocera) as Vectors of Eulimdana spp. (Nematoda: Filarioidea) in Charadriiform Birds and the Necessity of Short Reproductive Periods in Adult Worms. *The Journal of Parasitology*, 79(1), 85. doi:10.2307/3283282
- Bartlett, C. M. (2008). Filarioid Nematodes. In N. J. Thomas, D. B. Hunter, & C. T. Atkinson (Eds.), *Parasitic Diseases of Wild Birds* (1st. Ed., p. 439). Iowa, EUA: Wiley-Blackwell.
- Bennett, G. F. (1962). The hematocrit centrifuge for laboratory diagnosis of hematozoa. *Canadian Journal of Zoology*, 40(1), 124–125. doi:10.1139/z62-014
- Bennett, G. F. (1993). Phylogenetic distribution and possible evolution of the avian species of the Haemoproteidae. *Systematic Parasitology*, 26(1), 39–44. doi:10.1007/BF00009646
- Bennett, G. F., Thommes, F., Blancou, J. & Artois, M. (1982). Blood parasites of some birds from the Lorraine region, France. *Journal of Wildlife Diseases*, 18(1), 81–88. doi:10.7589/0090-3558-18.1.81
- Bennett, G. F., Earlé, R. A. & Penzhorn, B. L. (1992a). *Ornithodoros peringueyi* (Argasidae) and *Xenopsylla trispinis* (Siphonaptera), probable intermediate hosts of *Hepatozoon atticorae* of the South African Cliff Swallow, *Hirundo spilodera*. *Canadian Journal of Zoology*, 70(1), 188–190. doi:10.1139/z92-028
- Bennett, G. F., Earlé, R. A. & Peirce, M. A. (1992b). New species of avian *Hepatozoon* (Apicomplexa: Haemogregarinidae) and a re-description of *Hepatozoon neophrontis* (Todd & Wohlbach, 1912) Wenyon, 1926. *Systematic Parasitology*, 23(3), 183–193. doi:10.1007/BF00010871
- Bennett, G. F., Bishop, M. A. & Peirce, M. A. (1993). Checklist of the avian species of *Plasmodium* Marchiafava & Celli, 1885 (Apicomplexa) and their distribution by avian family and Wallacean life zones. *Systematic Parasitology*, 26(3), 171–179. doi:10.1007/BF00009724
- Bennett, G. F., Peirce, M. A. & Earlé, R. A. (1994). An annotated checklist of the valid avian species of *Haemoproteus*, *Leucocytozoon* (Apicomplexa: Haemosporida) and *Hepatozoon* (Apicomplexa: Haemogregarinidae). *Systematic Parasitology*, 29(1), 61–73. doi:10.1007/BF00009839
- Bettencourt, A. & França, C. (1907). Notes sur les trypanosomes des oiseaux du Portugal. *Archivos Do Real Instituto Bacteriológico Câmara Pestana*, 1, 133–136.

- Biedrzycka, A., Kloch, A., Migalska, M. & Bielański, W. (2013). Molecular characterization of putative Hepatozoon sp. from the sedge warbler (*Acrocephalus schoenobaenus*). *Parasitology*, 140(6), 695–8. doi:10.1017/S0031182012002004
- BirdLife International (2014a). Migratory Birds and Flyways. Retrieved September 25, 2014, from <http://www.birdlife.org/worldwide/programme-additional-info/migratory-birds-and-flyways>
- BirdLife International (2014b). Important Bird Areas factsheet: Ria Formosa (Faro lagoon). Retrieved September 25, 2014, from <http://www.birdlife.org>
- BirdLife International (2014c). Important Bird Areas factsheet: Estrela Mountains. Retrieved September 25, 2014, from <http://www.birdlife.org>
- Blanco, G., Gajón, A., Doval, G., & Martínez, F. (1998). Absence of blood parasites in Griffon vultures from Spain. *Journal of Wildlife Diseases*, 34(3), 640–643. doi:10.7589/0090-3558-34.3.640
- Bonser, R. H. (2001). Mites on birds. *Trends in Ecology & Evolution*, 16(1), 18–19. doi:10.1016/S0169-5347(00)02012-7
- Booth, D. T., Clayton, D. H. & Block, B. A. (1993). Experimental Demonstration of the Energetic Cost of Parasitism in Free-Ranging Hosts. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 253(1337), 125–129. doi:10.1098/rspb.1993.0091
- Bowman, D. D. (2008a). Arthropods. . In D. D. Bowman (Ed.), *Georgis' Parasitology for Veterinarians* (9th Ed., pp. 5–83). Philadelphia, EUA: Saunders Elsevier.
- Bowman, D. D. (2008b). Helminths. In D. D. Bowman (Ed.), *Georgis' Parasitology for Veterinarians* (9th Ed., pp. 115–239). Philadelphia, EUA: Saunders Elsevier.
- Burt, D. R. R. (1980). Intraspecific variation in *Diplophallus polymorphus* (Rudolphi, 1819) (Cestoda: Acoleidae) from avocets and stilts (Recurvirostridae) in North America. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 68(4), 387–397. doi:10.1111/j.1096-3642.1980.tb01928.x
- Campbell, T. W. (1995). *Avian Hematology and Cytology* (2nd Ed.). Iowa State University Press.
- Campbell, T. W. (2012). Hematology of Birds. In M. A. Thrall, G. Weiser, R. W. Allison, & T. W. Campbell (Eds.), *Veterinary Hematology and Clinical Chemistry* (2nd Ed., pp. 238–276). Oxford: Wiley-Blackwell.
- Carreno, R. A. (2008). Dispharynx, Echinuria, and Streptocara. In N. J. Thomas, D. B. Hunter, & C. T. Atkinson (Eds.), *Parasitic Diseases of Wild Birds* (1st Ed., pp. 326–342). Iowa, EUA: Wiley-Blackwell.
- Catry, P., Costa, H., Elias, G. & Matias, R. (2010). *Aves de Portugal. Ornitologia do território continental*. Lisboa: Assírio & Alvim.
- CERVAS (2013). *Relatório de Actividades* (pp. 1–69). Gouveia.

- Clark, P., Boardman, W. & Raidal, S. (2009). *Atlas of clinical avian hematology* (1st Ed.). Oxford: Wiley-Blackwell.
- Clayton, D. H. (1990). Mate choice in experimentally parasitized rock doves: lousy males lose. *American Zoologist*, 30(2), 251–262. doi:10.2307/3883597
- Clayton, D. H. (1991a). Coevolution of avian grooming and ectoparasite avoidance. In M. Zuk & J. E. Loya (Eds.), *Bird-Parasite Interactions: Ecology, Evolution, and Behaviour* (pp. 258–289). Oxford: Oxford University Press.
- Clayton, D. H. (1991b). The influence of parasites on host sexual selection. *Parasitology Today*, 7(12), 329–334. doi:10.1016/0169-4758(91)90211-6
- Clayton, D. H., Bush, S. E. & Johnson, K. (2004). Ecology of Congruence: Past Meets Present. *Systematic Biology*, 53(1), 165–173. doi:10.1080/10635150490265102
- Clayton, D. H., Adams, R. J. & Bush, S. E. (2008). Phthiraptera, the Chewing Lice. In N. J. Thomas, D. B. Hunter, & C. T. Atkinson (Eds.), *Parasitic Diseases of Wild Birds* (1st Ed., pp. 515–526). Iowa, EUA: Wiley-Blackwell.
- Cordero del Campillo, M. M. (1980). *Índice-Catálogo de Zooparásitos Ibéricos* (pp. 1–579). Madrid: Serviço de Publicaciones del Ministério de Sanidad y Seguridad Social.
- Dabert, J. & Mironov, S. (1999). Origin and evolution of feather mites (Astigmata). *Experimental and Applied Acarology*, 23(6), 437–454. doi:10.1023/A:1006180705101
- Deardorff, T. & Overstreet, R. (1980). *Contracaecum multipapillatum* (= *C. robustum*) from fishes and birds in the northern Gulf of Mexico. *The Journal of Parasitology*, 66(5), 853–856.
- Desser, S. & Bennett, G. (1993). The genera *Leucocytozoon*, *Haemoproteus* and *Hepatocystis*. In J. P. Kreier (Ed.), *Parasitic Protozoa* (2nd Ed., pp. 273–308). London: Academic Press.
- Devaney, J. & Augustine, P. (1988). Correlation of estimated and actual northern fowl mite populations with the evolution of specific antibody to a low molecular weight polypeptide in the sera of infested. *Poultry Science*, 67(4), 549–556. doi:10.3382/ps.0670549
- Dik, B., Yamaç, E. & Uslu, U. (2011). Chewing lice (Phthiraptera) found on wild birds in Turkey. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 17(5), 787–794.
- Dorresteijn, G. M. (2009). Passerines and exotic softbills. In T. Tully, G. Dorresteijn, & A. Jones (Eds.), *Handbook of Avian Medicine* (2nd Ed.). Oxford, UK: Saunders Ltd.
- Dražina, T. & Špoljar, M. (2009). Insect fauna in nests of the Eurasian griffon vulture (*Gyps fulvus*) in Croatia. *Biologia*, 64(5), 969–973. doi:10.2478/s11756-009-0147-y

- Dumbacher, J. P. (1999). Evolution of toxicity in pitohuis: I. Effects of homobatrachotoxin on chewing lice (order Phthiraptera). *The Auk*, 116(4), 957–963. doi:10.2307/4089675
- Dumbacher, J. P., Beehler, B. M., Spande, T. F., Garraffo, H. M. & Daly, J. W. (1992). Homobatrachotoxin in the genus Pitohui: chemical defense in birds? *Science*, 258(5083), 799–801. doi:10.1126/science.1439786
- Earlé, R. & Bennett, G. (1991). Avian blood parasites - A request for African Material. *Safring News*, 201(2), 3–8.
- Eisenback, J. (1985). Techniques for preparing nematodes for scanning electron microscopy. In K. R. Barker, C. C. Carter, & J. N. Sasser (Eds.), *An advanced treatise on Meloidogyne, vol. 2. Methodology* (pp. 79–105). Raleigh: North Carolina State University Department of Plant Pathology and U.S. Agency for International Development.
- Fagerholm, H. P. (1991). Systematic implications of male caudal morphology in ascaridoid nematode parasites. *Systematic Parasitology*, 19(3), 215–229. doi:10.1007/BF00011888
- Fagerholm, H. P. (1996). Nematode parasites of marine and shore birds and their role as pathogens. *Bulletin of the Scandinavian Society of Parasitology*, 6(2), 16–30.
- Fagerholm, H. P. & Overstreet, R. M. (2008). Ascaridoid Nematodes: Contracaecum, Porrocaecum, and Baylisascaris. In N. J. Thomas, D. B. Hunter, & C. T. Atkinson (Eds.), *Parasitic Diseases of Wild Birds* (1st Ed., pp. 413–433). Iowa, EUA: Wiley-Blackwell.
- Fallis, A. M., Desser, S. S. & Khan, R. A. (1974). On species of *leucocytozoon*. *Advances in Parasitology*, 12(1890), 1–67.
- Ferguson-Lees, J. & Christie, D. (2001). *Raptors of the world* (1st Ed.). London: Christopher Helm Publishers.
- Fernández, A. R. M., Alvarez, A. M. & Martin, F. S. (1999). Diagnóstico de las parasitosis. In A. Borchert & M. Del Campillo (Eds.), *Parasitología veterinaria* (1st Ed., pp. 158–177). Madrid: McGraw-Hill.
- Ferrer, D., Molina, R., Castellà, J. & Kinsella, J. M. (2004). Parasitic helminths in the digestive tract of six species of owls (Strigiformes) in Spain. *Veterinary Journal*, 167(2), 181–185. doi:10.1016/S1090-0233(03)00103-5
- Forrester, D. J. & Spalding, M. G. (2003). *Parasites and Diseases of Wild Birds in Florida* (pp. 1–1024). Florida: University Press of Florida.
- Forrester, D. J. & Greiner, E. C. (2008). Leucocytozoonosis. In N. J. Thomas, D. B. Hunter, & C. T. Atkinson (Eds.), *Parasitic Diseases of Wild Birds* (1st Ed., pp. 54–107). Iowa, EUA: Wiley-Blackwell.
- Friend, M. & Franson, J. C. (1999). *Field Manual of Wildlife Diseases. General Field Procedures and Diseases of Birds. Information and Technology Report 01*. US

- Department of the Interior and US Geological Survey. (p. 438). Washington, D.C.: USGS National Wildlife Health Center..
- Fromont, E. (1993). *Hématologie et parasites sanguins des rapaces. Étude chez des oiseaux en réhabilitation*. École Nationale Vétérinaire de Lyon. [These pour le doctorat vétérinaire]
- Galkin, A. K., Galaktionov, K. V., Marasaev, S. F. & Prokofiev, V. V. (1994). Cestodes of the fish-eating birds of Kharlov Island and Franz Josef Land. *Parazitologiya*, 28(5), 373–384. [In Russian]
- Gardiner, C. H., Fayer, R. & Dubey, J. P. (1988). *An atlas of protozoan parasites in animal tissues*. *International Journal for Parasitology* (2nd Ed., Vol. 21, p. 83). Washington, D.C.: U.S. Department of Agriculture, Agriculture Handbook No: 651.
- Garvin, M. C., Szell, C. C. & Moore, F. R. (2006). Blood parasites of Nearctic-Neotropical migrant passerine birds during spring trans-Gulf migration: impact on host body condition. *The Journal of Parasitology*, 92(5), 990–6. doi:10.1645/GE-758R.1
- Gaud, J. (1972). Acariens sarcoptiformes plumicoles (Analgoidea). Parasites sur les oiseaux charadriiformes d'Afrique. *Annales Du Musée Royale de l'Afrique Centrale Série in-8, Sciences Zoologiques* 193, 1–116.
- Gibbons, L. M. (2010). *Keys to the Nematode Parasites of Vertebrates: Supplementary Volume*. (L. M. Gibbons, Ed.) (1st Ed., p. 336). Wallingford: CABI Publishing.
- Gilardi, K. V, Gilardi, J. D., Frank, A., Goff, M. L. & Boyce, W. M. (2001). Epidermoptid mange in Laysan albatross fledglings in Hawaii. *Journal of Wildlife Diseases*, 37(1), 185–188. doi:10.7589/0090-3558-37.1.185
- Gill, F. & Donsker, D. (2014). IOC World Bird List (v 4.4). doi:10.14344/IOC.ML.4.4
- Gomez, M., Osorio, M. & Maza, F. (1993). Parasitisation of falconiform, strigiform and passeriform (Corvidae) birds by helminths in Spain. *Research and Reviews in Parasitology*, 53(3-4), 129–135.
- Greiner, E. C. (2008). Isospora, Atoxoplasma, and Sarcocystis. In N. J. Thomas, D. B. Hunter, & C. T. Atkinson (Eds.), *Parasitic Diseases of Wild Birds* (1st. Ed., pp. 108–119). Iowa, EUA: Wiley-Blackwell.
- Greve, J. H., Albers, H. F., Suto, B. & Grimes, J. (1986). Pathology of Gastrointestinal Helminthiasis in the Brown Pelican (*Pelecanus occidentalis*). *Avian Diseases*, 30(3), 482. doi:10.2307/1590410
- Gwinner, H., Oltrogge, M., Trost, L. & Nienaber, U. (2000). Green plants in starling nests: effects on nestlings. *Animal Behaviour*, 59(2), 301–309. doi:10.1006/anbe.1999.1306
- Harold, S. (1928). Mallophaga from Ohio Birds. *Ohio Journal of Science*, 28(4), 215–228.



- Hasselquist, D., Östman, Ö., Waldenström, J. & Bensch, S. (2007). Temporal patterns of occurrence and transmission of the blood parasite *Haemoproteus payevskyi* in the great reed warbler *Acrocephalus arundinaceus*. *Journal of Ornithology*, 148(4), 401–409. doi:10.1007/s10336-007-0144-2
- Hauptmanová, K., Benedikt, V. & Literák, I. (2006). Blood parasites in passerine birds in Slovakian East Carpathians. *Acta Protozoologica*, 45, 105–109.
- Hellgren, O., Waldenström, J., Pérez-Tris, J., Szöllösi, E., Hasselquist, D., Krizanauskiene, A., Ottosson, U. & Bensch, S. (2007). Detecting shifts of transmission areas in avian blood parasites: a phylogenetic approach. *Molecular Ecology*, 16(6), 1281–90. doi:10.1111/j.1365-294X.2007.03227.x
- Herman, C. M., Barrow, J. H., & Tarshis, I. B. (1975). Leucocytozoonosis in Canada Geese at the Seney National Wildlife Refuge. *Journal of Wildlife Diseases*, 11(3), 404–411. doi:10.7589/0090-3558-11.3.404
- Hickman, C., Roberts, L., & Larson, A. (2006). Birds. In *Integrated principles of zoology* (11th Ed., pp. 581–606). New York: McGraw-Hill.
- Hillgarth, N. (1996). Ectoparasite Transfer during Mating in Ring-Necked Pheasants *Phasianus colchicus*. *Journal of Avian Biology*, 27(3), 260. doi:10.2307/3677232
- Huffman, J. E. (2008). Trematodes. In N. J. Thomas, D. B. Hunter, & C. T. Atkinson (Eds.), *Parasitic Diseases of Wild Birds* (1st Ed., pp. 225–245). Iowa, EUA: Wiley-Blackwell.
- Humphrey, S., Courtney, C., & Forrester, D. (1978). Community ecology of the helminth parasites of the brown pelican. *The Wilson Bulletin*, 90(4), 587–598. doi:10.2307/4161129
- Instituto de Meteorologia de Portugal & Agência Estatal de Meteorologia de Espanha (2011). *Atlas climático ibérico: Temperatura do ar e precipitação (1971-2000)*. Agência Estatal de Meteorologia.
- Jarvi, S., Schultz, J. & Atkinson, C. (2002). PCR diagnostics underestimate the prevalence of avian malaria (*Plasmodium relictum*) in experimentally-infected passerines. *Journal of Parasitology*, 88(1), 153–158. doi:10.1645/0022-3395(2002)088[0153:PDUTPO]2.0.CO;2
- Johnson, K. & Clayton, D. (2003). The biology, ecology, and evolution of chewing lice. In R. Price, R. Hellenthal, R. Palma, K. Johnson, & D. Clayton (Eds.), *The chewing lice: world checklist and biological overview* (pp. 449–476). Illinois: Illinois Natural History Survey Special Publication.
- Jones, A., Bailey, T., Nicholls, P., Samour, J. & Naldo, J. (1996). Cestode and acanthocephalan infections in captive bustards: New host and location records, with data on pathology, control, and preventive medicine. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 27(2), 201–208. doi:10.2307/20095566

- Kappe, S. H. I., Kaiser, K. & Matuschewski, K. (2003). The *Plasmodium* sporozoite journey: a rite of passage. *Trends in Parasitology*, 19(3), 135–143. doi:10.1016/S1471-4922(03)00007-2
- Keirans, J. (1975). A review of the phoretic relationship between Mallophaga (Phthiraptera: Insecta) and Hippoboscidae (Diptera: Insecta). *Journal of Medical Entomology*, 12(1), 71–76.
- Kocan, R. (1968). Anemia and Mechanism of Erythrocyte Destruction in Ducks with Acute *Leucocytozoon* Infections. *The Journal of Protozoology*, 15(3), 455–462. doi:10.1111/j.1550-7408.1968.tb02156.x
- König, C. & Weick, F. (2009). *Owls of the world* (2nd Ed.). London: Christopher Helm Publishers.
- Korpimäki, E., Hakkarainen, H. & Bennett, G. (1993). Blood parasites and reproductive success of Tengmalm's owls: detrimental effects on females but not on males? *Functional Ecology*, 7(4), 420–426. doi:10.2307/2390029
- Kose, M., Mänd, R. & Møller, A. (1999). Sexual selection for white tail spots in the barn swallow in relation to habitat choice by feather lice. *Animal Behaviour*, 58(6), 1201–1205. doi:10.1006/anbe.1999.1249
- Krone, O., Priemer, J., Streich, J., Sömmer, P., Langgemach, T. & Lessow, O. (2001). Haemosporida of birds of prey and owls from Germany. *Acta Protozoologica*, 40, 281–289.
- Lehane, M. J. (2008). *The Biology of Blood-Sucking in Insects* (2nd Ed., pp. 1–321). Cambridge: Cambridge University Press.
- Levin, I. I., Outlaw, D. C., Vargas, F. H. & Parker, P. G. (2009). *Plasmodium* blood parasite found in endangered Galapagos penguins (*Spheniscus mendiculus*). *Biological Conservation*, 142(12), 3191–3195. doi:10.1016/j.biocon.2009.06.017
- Levin, I. I., Zwiers, P., Deem, S. L., Geest, E. A., Higashiguchi, J. M., Iezhova, T. A., Jiménez-Uzcátegui, G., Kim, D. H., Morton, J. P., Perlut, N. G., Renfrew, R. B., Sari, E. H. R., Valkiunas, G. and Parker, P. G. (2013). Multiple lineages of Avian malaria parasites (*Plasmodium*) in the Galapagos Islands and evidence for arrival via migratory birds. *Conservation Biology: The Journal of the Society for Conservation Biology*, 27(6), 1366–77. doi:10.1111/cobi.12127
- Lindsay, D. S. & Blagburn, B. L. (2008). Cryptosporidium. In N. J. Thomas, D. B. Hunter, & C. T. Atkinson (Eds.), *Parasitic Diseases of Wild Birds* (1st Ed., pp. 195–203). Iowa, EUA: Wiley-Blackwell.
- Mahon, J. (1958). Helminth Parasites of Reptiles, Birds, and Mammals of Egypt: V. Avian Cestodes. *Canadian Journal of Zoology*, 36(4), 577–605. doi:10.1139/z58-054
- Majka, C. G. & Sorensson, M. (2010). Featherwing beetles (Coleoptera: Ptiliidae) of the Atlantic Maritime Ecozone. In D. F. McAlpine & I. M. Smith (Eds.), *Assessment of*

- Species Diversity in the Atlantic Maritime Ecozone* (pp. 433–438). Ottawa: NRC Research Press.
- Martinho, F. & Melo, P. (2002). Prevalência de Hematozoários em Aves Silvestres Admitidas no Centro de Recuperação de Animais Selvagens do Parque Florestal de Monsanto (C.R.A.S.P.F.M.). In *Congresso de Ciências Veterinárias*. Oeiras: Sociedade Portuguesa de Ciências Veterinárias.
- Martinsen, E. S., Blumberg, B. J., Eisen, R. J. & Schall, J. J. (2008). Avian hemosporidian parasites from northern California oak woodland and chaparral habitats. *Journal of Wildlife Diseases*, 44(2), 260–8. doi:10.7589/0090-3558-44.2.260
- McLaughlin, J. D. (2008). Cestodes. In N. J. Thomas, D. B. Hunter, & C. T. Atkinson (Eds.), *Parasitic Diseases of Wild Birds* (1st Ed., pp. 261–276). Iowa, EUA: Wiley-Blackwell.
- Mendes, P., Eira, C., Vingada, J., Miquel, J. & Torres, J. (2013). The system *Tetrabothrius bassani* (Tetrabothriidae)/*Morus bassanus* (Sulidae) as a bioindicator of marine heavy metal pollution. *Acta Parasitologica*, 58(1), 21–5. doi:10.2478/s11686-013-0102-5
- Merino, S., Potti, J. & Fargallo, J. A. (1997). Blood parasites of passerine birds from central Spain. *Journal of Wildlife Diseases*, 33(3), 638–41. doi:10.7589/0090-3558-33.3.638
- Møller, A. P. & Rózsa, L. (2005). Parasite biodiversity and host defenses: chewing lice and immune response of their avian hosts. *Oecologia*, 142(2), 169–76. doi:10.1007/s00442-004-1735-8
- Mucha, K. & Huffman, J. (1991). Inflammatory cell stimulation and wound healing in *Sphaeridiotrema globulus* experimentally infected mallard ducks (*Anas platyrhynchos*). *Journal of Wildlife Diseases*, 27(3), 428–434. doi:10.7589/0090-3558-27.3.428
- Muñoz, E., Molina, R. & Ferrer, D. (1999a). *Babesia shortti* infection in a common kestrel (*Falco tinnunculus*) in Catalonia (northeastern Spain). *Avian Pathology*, 28(2), 207–209. doi:10.1080/03079459994957
- Muñoz, E., Ferrer, D., Molina, R. & Adlard, R. D. (1999b). Prevalence of haematozoa in birds of prey in Catalonia, north-east Spain. *Veterinary Record*, 144(23), 632–636. doi:10.1136/vr.144.23.632
- Mutafchiev, Y., Halajian, A. & Georgiev, B. (2010). Two new nematode species of the genus *Cosmocephalus* Molin, 1858 (Spirurida: Acuariidae), with an amended generic diagnosis and an identification. *Zootaxa*, 2349, 1–20.
- Nagasawa, K. (2012). The biology of *Contracaecum osculatum* sensu lato and *C. osculatum* A (Nematoda: Anisakidae) in Japanese waters: a review. *Biosphere Science*, 51, 61–69.

- Newton, I. (2008). *The migration ecology of birds* (1st Ed.). Oxford, UK: Academic Press.
- Norte, A. C., Araújo, P. M., Sampaio, H. L., Sousa, J. P., & Ramos, J. A. (2009). Haematozoa infections in a Great Tit *Parus major* population in Central Portugal: relationships with breeding effort and health. *Ibis*, 151(4), 677–688. doi:10.1111/j.1474-919X.2009.00960.x
- Ogilvie, M. (2007). *The Atlas of Bird Migration: Tracing the Great Journeys of the World's Birds*. (J. Elphick, Ed.). Ontario: Firefly Books.
- Palma, R. (1978). Slide-mounting of lice: a detailed description of the Canada balsam technique. *The New Zealand Entomologist*, 6(4), 432–436. doi:10.1080/00779962.1978.9722313
- Parque Natural da Ria Formosa. (2007a). *Revisão do Plano de Ordenamento do Parque Natural da Ria Formosa - Volume 1 (Caracterização Geral)* (pp. 1–655). Olhão.
- Parque Natural da Ria Formosa. (2007b). *Revisão do Plano de Ordenamento do Parque Natural da Ria Formosa - Volume 3 (Fauna)* (pp. 1–124). Olhão.
- Peirce, M. A. (1981). Distribution and host-parasite check-list of the haematozoa of birds in Western Europe. *Journal of Natural History*, 15(3), 419–458. doi:10.1080/00222938100770321
- Peirce, M. A. (2000). A taxonomic review of avian piroplasms of the genus *Babesia* Starcovici, 1893 (Apicomplexa: Piroplasmorida: Babesiidae). *Journal of Natural History*, 34(3), 317–332. doi:10.1080/002229300299507
- Peirce, M. A. (2005). A checklist of the valid avian species of *Babesia* (Apicomplexa: Piroplasmorida), *Haemoproteus*, *Leucocytozoon* (Apicomplexa: Haemosporida), and *Hepatozoon* (Apicomplexa: Haemogregarinidae). *Journal of Natural History*, 39(42), 3621–3632. doi:10.1080/00222930500340534
- Peirce, M. A. (2007). Hemoparasites. In J. Samour (Ed.), *Avian Medicine* (2nd Ed., pp. 337–346). St. Louis: Mosby.
- Peirce, M. A. & Mead, C. J. (1978). Haematozoa of British birds III. Spring incidence of blood parasites of birds from Hertfordshire, especially returning migrants. *Journal of Natural History*, 12(3), 337–340. doi:10.1080/00222937800770181
- Pemberton, R. T. (1963). Helminth Parasites of Three Species of British Gulls, *Larus argentatus* Pont., *L. fuscus* L. and *L. ridibundus* L. *Journal of Helminthology*, 37(1-2), 57–88. doi:10.1017/S0022149X00019660
- Pence, D. B. (2008). Acariasis. In N. J. Thomas, D. B. Hunter, & C. T. Atkinson (Eds.), *Parasitic Diseases of Wild Birds* (1st Ed., pp. 527–536). Iowa, EUA: Wiley-Blackwell.
- Pence, D. B., Cole, R. A., Brugger, K. E., & Fischer, J. R. (1999). Epizootic podoknemidokoptiasis in American robins. *Journal of Wildlife Diseases*, 35(1), 1–7. doi:10.7589/0090-3558-35.1.1

- Perera, A., Maia, J. P. M. C., Jorge, F., & Harris, D. J. (2013). Molecular screening of nematodes in lacertid lizards from the Iberian Peninsula and Balearic Islands using 18S rRNA sequences. *Journal of Helminthology*, 87(2), 189–94. doi:10.1017/S0022149X12000181
- Pérez, J., Ruiz-Martínez, I., & Cooper, J. (1996). Occurrence of chewing lice on Spanish raptors. *Ardeola*, 43(2), 129–138.
- Permin, A., & Juhl, J. (2002). The development of *Plasmodium gallinaceum* infections in chickens following single infections with three different dose levels. *Veterinary Parasitology*, 105(1), 1–10. doi:10.1016/S0304-4017(01)00645-8
- Pilgrim, R., & Palma, R. (1982). *A list of the chewing lice (Insecta: Mallophaga) from birds in New Zealand* (Notornis 2., pp. 1–32). National Museum of New Zealand Miscellaneous Series 6: National Museum of New Zealand, Miscellaneous Series 6.
- Pough, F., Janis, C., & Heiser, J. (2012). Avian Specializations. In *Vertebrate Life* (9th Ed.). Benjamin Cummings.
- Poulin, R. (1997). Species richness of parasite assemblages: Evolution and Patterns. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 28(1), 341–358. doi:10.1146/annurev.ecolsys.28.1.341
- Price, R., Hellenthal, R., & Palma, R. (2003). World checklist of chewing lice with host associations and keys to families and genera. In R. Price, R. Hellenthal, R. Palma, K. Johnson, & D. Clayton (Eds.), *The chewing lice: world checklist and biological overview* (pp. 1–448). Illinois: Illinois Natural History Survey Special Publication.
- Proctor, H., & Owens, I. (2000). Mites and birds: diversity, parasitism and coevolution. *Trends in Ecology & Evolution*, 15(9), 358–364. doi:10.1016/S0169-5347(00)01924-8
- Rankin Jr., J. S. (1946). Helminth parasites of birds and mammals in western Massachusetts. *American Midland Naturalist*, 35(3), 756–768. doi:10.2307/2421556
- Recurso Lda. (2008). *Revisão do Plano de Ordenamento do Parque Natural da Serra da Estrela* (pp. 1–45).
- RIAS. (2013). *Relatório de Actividades* (pp. 1–87). Olhão.
- Richardson, D. J., & Nickol, B. B. (2008). Acanthocephala. In N. J. Thomas, D. B. Hunter, & C. T. Atkinson (Eds.), *Parasitic Diseases of Wild Birds* (1st Ed., pp. 277–288). Iowa, EUA: Wiley-Blackwell.
- Rintamäki, P., & Huhta, E. (1999). Leucocytozoonosis and trypanosomiasis in redstarts in Finland. *Journal of Wildlife Diseases*, 35(3), 603–607. doi:10.7589/0090-3558-35.3.603
- Rózsa, L. (1997). Patterns in the abundance of avian lice (Phthiraptera: Amblycera, Ischnocera). *Journal of Avian Biology*, 28(3), 249–254. doi:10.2307/3676976

- Rózsa, L., Rékási, J., & Reiczigel, J. (1996). Relationship of host coloniality to the population ecology of avian lice (Insecta: Phthiraptera). *Journal of Animal Ecology*, 65(2), 242–248. doi:10.2307/5727
- Salema, R., & Santos, I. (1992). *Microscopia electrónica de transmissão: instrumentação e técnicas para material biológico* (pp. 1–252). Lisboa: Instituto Nacional de Investigação Científica.
- Samuel, W. M., Williams, E. S., & Rippin, A. B. (1982). Infestations of *Piagetiella peralis* (Mallophaga: Menoponidae) on juvenile white pelicans. *Canadian Journal of Zoology*, 60(5), 951–953. doi:10.1139/z82-130
- Sanmartín, M. L., Cordeiro, J. a., Álvarez, M. F., & Leiro, J. (2005). Helminth fauna of the yellow-legged gull *Larus cachinnans* in Galicia, north-west Spain. *Journal of Helminthology*, 79(4), 361–371. doi:10.1079/JOH2005309
- Santiago-Alarcon, D., Palinauskas, V., & Schaefer, H. M. (2012). Diptera vectors of avian Haemosporidian parasites: untangling parasite life cycles and their taxonomy. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society*, 87(4), 928–64. doi:10.1111/j.1469-185X.2012.00234.x
- Santoro, M., Mattiucci, S., Kinsella, J. M., Aznar, F. J., Giordano, D., Castagna, F., Pellegrino, F. & Nascetti, G. (2011). Helminth community structure of the Mediterranean gull (*Ichthyiaetus melanocephalus*) in Southern Italy. *The Journal of Parasitology*, 97(2), 364–6. doi:10.1645/GE-2602.1
- Santoro, M., Mattiucci, S., Nascetti, G., Kinsella, J. M., Di Prisco, F., Troisi, S., D'Alessio, N., Veneziano, V. & Aznar, F. J. (2012). Helminth communities of owls (strigiformes) indicate strong biological and ecological differences from birds of prey (accipitriformes and falconiformes) in southern Italy. *PloS One*, 7(12), 1–13. doi:10.1371/journal.pone.0053375
- Santos, N., Pereira, M., Melo, P., & Madeira de Carvalho, L. (2008). Pesquisa de hemoprotozoários em aves de rapina (ordens Falconiformes e Strigiformes) em centros de recuperação em Portugal. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*, 103((567-568)), 195–200.
- Scheuerlein, A., & Ricklefs, R. E. (2004). Prevalence of blood parasites in European passeriform birds. *Proceedings. Biological Sciences / The Royal Society*, 271(1546), 1363–70. doi:10.1098/rspb.2004.2726
- Schmidt, G. D. (1985). Development and life cycles. In D. W. T. Crompton & B. B. Nickol (Eds.), *Biology of the Acanthocephala* (1st Ed., pp. 273–305). Cambridge, UK: Cambridge University Press.
- Schulman, F., Montali, R., & Citino, S. (1992). Pathology, diagnosis, and treatment of *Synhimantus nasuta* infection in African jacanas (*Actophilornis africana*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 23(3), 313–317.

- Sehgal, R. N., Jones, H. I., & Smith, T. B. (2001). Host specificity and incidence of *Trypanosoma* in some African rainforest birds: a molecular approach. *Molecular Ecology*, 10(9), 2319–27. doi:10.1046/j.1365-294X.2001.01339.x
- Seurat, L. (1919). Dispharages (Nématodes) de l'Afrique mineure. *Novitates Zoologicae*, 26, 179–189.
- Shafey, H. E. A. (2012). *Desportesius invaginatus* (Linstow, 1901) Chabaud and Campana, 1949 (Nematoda, Acuariidae) from *Ardeola ibis ibis* with Reference to the Fine Structure of the Cordons. *Parasitologists United Journal*, 5(1), 49–57.
- Sheldon, L., Chin, E., & Gill, S. (2008). Effects of blood collection on wild birds: an update. *Journal of Avian Biology*, (October 2007). doi:10.1111/j.2008.0908-8857.04295.x
- Shurulinkov, P. (2005). Occurrence of Haematozoan Parasites of Genus *Hepatozoon* (Apicomplexa: Hepatozoidae) in Wild Birds in Bulgaria. *Acta Zoologica Bulgarica*, 57(2), 245–252.
- Silva, R., Raso, T., Faria, P. & Campos, F. (2005). Occurrence of *Contracaecum pelagicum* Johnston & Mawson 1942 (Nematoda, Anisakidae) in *Sula leucogaster* Boddaert 1783 (Pelecaniformes, Sulidae). *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária E Zootecnia*, 57(4), 565–567. doi:10.1590/S0102-09352005000400023
- Silva, M., Santos, A., Formosinho, P., & Bacellar, F. (2006). Carraças associadas a patologias infecciosas em Portugal. *Acta Médica Portuguesa*, 19(1), 39–48.
- Şinasi, U., Beyhan, Y., Pekmezci, G., Açıci, M., & Gürler, A. T. (2010). First record of *Synhimantus* (S.) *laticeps* (Rudolphi, 1819) Railliet, Henry et Sisoff, 1912 (Nematoda, Acuariidae) in *Accipiter nisus* (Aves, Accipitridae) in Turkey. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 57(2), 139–142. doi:10.1501/Vetfak\_00000002325
- Smith, T. G., & Desser, S. S. (1997). Phylogenetic analysis of the genus *Hepatozoon* Miller, 1908 (Apicomplexa: Adeleorina). *Systematic Parasitology*, 36(3), 213–221. doi:10.1023/A:1005721501485
- Sol, D., Jovani, R., & Torres, J. (2003). Parasite mediated mortality and host immune response explain age-related differences in blood parasitism in birds. *Oecologia*, 135(4), 542–7. doi:10.1007/s00442-003-1223-6
- Sonune, M. (2012). A new Species of the genus *Neyraia* (Cestoda: Dilepididae) from Aurangabad, M.S., India. *Bioscience Discovery: An International Journal of Life Sciences*, 3(2), 176–178.
- Svensson, L., Mullarney, K., & Zetterström, D. (2012). *Guia de Aves - Guia de Campo de Portugal e da Europa* (2nd Ed.). Assírio & Alvim.
- Taylor, M. A., Coop, R. L. & Wall, R. L. (2007a). Parasite taxonomy and morphology. In M. A. Taylor, R. L. Coop, & R. L. Wall (Eds.), *Veterinary parasitology* (3rd Ed., pp. 32–155). Iowa, EUA: Wiley-Blackwell.

- Taylor, M. A., Coop, R. L. & Wall, R. L. (2007b). Resistance to parasitic diseases. In M. A. Taylor, R. L. Coop, & R. L. Wall (Eds.), *Veterinary parasitology* (3rd Ed., pp. 1762–1775). Iowa, EUA: Wiley-Blackwell.
- Timms, R., & Read, A. F. (1999). What makes a specialist special? *Trends in Ecology & Evolution*, 14(9), 333–334. doi:10.1016/S0169-5347(99)01697-3
- Tizard, I. (2012). *Veterinary immunology*. (9th Editio.). Elsevier Health Science.
- Tomé, R., Santos, N., Cardia, P., Ferrand, N., & Korpimäki, E. (2005). Factors affecting the prevalence of blood parasites of Little Owls *Athene noctua* in southern Portugal. *Ornis Fennica*, 82(2), 63–72.
- Tompkins, D., Jones, T., & Clayton, D. (1996). Effect of vertically transmitted ectoparasites on the reproductive success of swifts (*Apus apus*). *Functional Ecology*, 10(6), 733. doi:10.2307/2390508
- Urquhart, G., Armour, J., Duncan, J., Dunn, A., & Jennings, F. (1996). *Veterinary Parasitology* (2nd Ed.). Oxford, UK: Blackwell Science Ltd.
- Valkiūnas, G. (2005). *Avian malaria parasites and other haemosporidia*. EUA: CRC Press.
- Valkiūnas, G. & Iezhova, T. A. (2001). A comparison of the blood parasites in three subspecies of the yellow wagtail *Motacilla flava*. *The Journal of Parasitology*, 87(4), 930–4. doi:10.1645/0022-3395(2001)087[0930:ACOTBP]2.0.CO;2
- Valkiūnas, G., Bairlein, F., Iezhova, T. A. & Dolnik, O. V. (2004). Factors affecting the relapse of *Haemoproteus belopolskyi* infections and the parasitaemia of *Trypanosoma* spp. in a naturally infected European songbird, the blackcap, *Sylvia atricapilla*. *Parasitology Research*, 93(3), 218–22. doi:10.1007/s00436-004-1071-2
- Valkiūnas, G., Iezhova, T. A., Križanauskienė, A., Palinauskas, V., Sehgal, R. N. M. & Bensch, S. (2008). A comparative analysis of microscopy and PCR-based detection methods for blood parasites. *The Journal of Parasitology*, 94(6), 1395–401. doi:10.1645/GE-1570.1
- Valkiūnas, G., Iezhova, T. A., Carlson, J. S. & Sehgal, R. N. M. (2011). Two new *Trypanosoma* species from African birds, with notes on the taxonomy of avian trypanosomes. *The Journal of Parasitology*, 97(5), 924–30. doi:10.1645/GE-2796.1
- van Riper III, C., van Riper, S. G., Goff, M. L., & Laird, M. (1986). The epizootiology and ecological significance of malaria in Hawaiian land birds. *Ecological Monographs*, 56(4), 327–344. doi:10.2307/1942550
- van Rooyen, J., Lalubin, F., Glaizot, O., & Christe, P. (2013). Avian haemosporidian persistence and co-infection in great tits at the individual level. *Malaria Journal*, 12, 40. doi:10.1186/1475-2875-12-40
- Vasyukova, T., & Mironov, S. (1991). *Feather mites of Anseriformes and Charadriiformes of Yakutia*. Systematics (pp. 1–200). Novosibirsk: Nauka, Siberian Dept. [In Russian]



- Viana, M. (2010). *Características hematológicas e ocorrência de hemoparasitas em aves de rapina*. Universidade Técnica de Lisboa. [Tese de mestrado]
- Votýpka, J., Obornik, M., & Volf, P. (2002). *Trypanosoma avium* of raptors (Falconiformes): phylogeny and identification of vectors. *Parasitology*, 125(3), 253–263. doi:10.1017/S0031182002002093
- Waldenström, J., Bensch, S., Kiboi, S., Hasselquist, D., & Ottosson, U. (2002). Cross-species infection of blood parasites between resident and migratory songbirds in Africa. *Molecular Ecology*, 11(8), 1545–1554. doi:10.1046/j.1365-294X.2002.01523.x
- Wall, R., & Shearer, D. (2001). *Veterinary ectoparasites: biology, pathology and control* (2nd Ed.). Oxford, UK: Wiley-Blackwell Science.
- Walter, D. E., & Proctor, H. C. (2013). *Mites: Ecology, Evolution & Behaviour* (2nd Ed.). Dordrecht: Springer Netherlands. doi:10.1007/978-94-007-7164-2
- Wardle, R. A., McLeod, J. A. & Radinovsky, S. (1974a). Order Tetrabothriidea Baer, 1954 (as Tetrabothridea). In R. A. Wardle, J. A. McLeod, & S. Radinovsky (Eds.), *Advances in the Zoology of Tapeworms, 1950-1970* (1st Ed., pp. 130–134). Minnesota: University of Minnesota Press.
- Wardle, R. A., McLeod, J. A. & Radinovsky, S. (1974b). Order Pseudophyllidea Carus, 1863. In R. A. Wardle, J. A. McLeod, & S. Radinovsky (Eds.), *Advances in the Zoology of Tapeworms, 1950-1970* (1st. Ed., pp. 46–63). Minnesota: University of Minnesota Press.
- Whiteman, N. K., Matson, K. D., Bollmer, J. L., & Parker, P. G. (2006). Disease ecology in the Galápagos Hawk (*Buteo galapagoensis*): host genetic diversity, parasite load and natural antibodies. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 273(1588), 797–804. doi:10.1098/rspb.2005.3396
- Wiersch, S. C., Lubjuhn, T., Maier, W. A., & Kampen, H. (2006). Haemosporidian infection in passerine birds from Lower Saxony. *Journal of Ornithology*, 148(1), 17–24. doi:10.1007/s10336-006-0094-0
- Wong, P. L., & Anderson, R. C. (1986). Revision of the genus *Desportesius* Chabaud and Campana, 1949 (Nematoda: Acuarioidea) mainly from the gizzard of ciconiform birds. *Canadian Journal of Zoology*, 64(11), 2520–2530. doi:10.1139/z86-373
- World Health Organization. (2013). *World malaria report: 2013*. Nature. Geneva.
- Yabsley, M., Work, T., & Rameyer, R. (2006). Molecular phylogeny of *Babesia poelea* from brown boobies (*Sula leucogaster*) from Johnston Atoll, central Pacific. *The Journal of Parasitology*, 92(2), 423–425.
- Yohannes, E., Križanauskienė, A., Valcu, M., Bensch, S., & Kempenaers, B. (2008). Prevalence of malaria and related haemosporidian parasites in two shorebird species with different winter habitat distribution. *Journal of Ornithology*, 150(1), 287–291. doi:10.1007/s10336-008-0349-z

- Young, M. D., Nayar, J. K., & Forrester, D. J. (2004). Epizootiology of *Plasmodium hermani* in Florida: chronicity of experimental infections in domestic turkeys and Northern Bobwhites. *Journal of Parasitology*, 90(2), 433–435.
- Zajac, A. M., Conboy, G. A., Greiner, E. C., Smith, S. A., & Snowden, K. F. (2012). Fecal Examination for the Diagnosis of Parasitism. In A. M. Zajac & G. A. Conboy (Eds.), *Veterinary Clinical Parasitology* (8th Ed., pp. 3–169). Iowa: Wiley-Blackwell.
- Zídková, L., Cepicka, I., Szabová, J., & Svobodová, M. (2012). Biodiversity of avian trypanosomes. *Infection, Genetics and Evolution*, 12(1), 102–12. doi:10.1016/j.meegid.2011.10.022
- Zucca, P., & Delogu, M. (2007a). Arthropods. In J. Samour (Ed.), *Avian Medicine* (2nd Ed., pp. 309–318). St. Louis: Mosby.
- Zucca, P., & Delogu, M. (2007b). Helminths. In J. Samour (Ed.), *Avian Medicine* (2nd Ed., pp. 325–337). St. Louis: Mosby.
- Özmen, Ö, Haligür, M., & Yukari, B. (2005). A Study on the Presence of Leucocytozoonosis in Wild Birds of Burdur District. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 29(6), 1273–1278.

## Anexos

### Anexo I – Resumo da comunicação oral apresentada no XVII Congresso Português de Parasitologia, Coimbra, 20-21 de Novembro de 2014

#### Malófagos em aves selvagens no Sul de Portugal

André Tomás<sup>1</sup>, Ricardo L. Palma<sup>2</sup>, Maria Teresa Rebelo<sup>1</sup>, Isabel Pereira da Fonseca<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Centro de Estudos do Ambiente e do Mar/Departamento de Biologia Animal, Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, Lisboa, Portugal

<sup>2</sup> Museu da Nova Zelândia Te Papa Tongarewa, Wellington, Nova Zelândia

<sup>3</sup> Centro de Investigação Interdisciplinar em Sanidade Animal, Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa, Lisboa, Portugal

**Introdução:** Os malófagos são o grupo de ectoparasitas mais representativo em aves selvagens e apresentam alta especificidade de hospedeiros, sendo a sua distribuição geográfica geralmente correspondente à distribuição das aves (Clayton *et al.*, 2008). Dada a longa co-evolução entre aves e parasitas, as aves desenvolveram eficientes mecanismos de limpeza das penas (por exemplo: *preening*, exposição solar e “banhos” de pó, etc) que ajudam a controlar as populações de malófagos, impedindo de modo geral, que estes interfiram na sua dinâmica populacional (Johnson & Clayton, 2003). Considerando a escassez de estudos nesta temática em Portugal, pretendeu-se com este trabalho contribuir para o conhecimento da prevalência destes ectoparasitas em aves selvagens.

**Material e Métodos:** Entre Setembro e Dezembro de 2013, foram recolhidas amostras de malófagos de 105 aves, pertencentes a 4 Ordens (Accipitriformes, Charadriiformes, Passeriformes e Suliformes) admitidas no Centro de Recuperação e Investigação de Animais Selvagens (RIAS) e capturadas em duas sessões de anilhagem científica no Parque Natural da Ria Formosa (PNRF). Para o estudo taxonómico, aos malófagos foram preparados de acordo com a Técnica de Bálsamo do Canadá (Palma 1978), colocados entre lâmina e lamela e observados ao microscópio óptico.

**Resultados:** A prevalência de malófagos nas 4 Ordens de aves foi de 20,0% (21/105), sendo esta prevalência significativamente mais elevada em Suliformes (71,4% - 5/7), do que nas restantes ordens amostradas (Accipitriformes: 61,5% - 8/13; Charadriiformes: 17,4% - 8/46; Passeriformes: 0,0% - 0/39). Os malófagos identificados em apenas 21 aves (pertencentes a 6 espécies), incluem-se na subordem Amblycera (8 espécies) e na subordem Ischnocera (5 espécies). Nas 21 aves, foram detectadas 57,1% de infestações mistas. Foram identificadas associações estatisticamente significativas na prevalência de malófagos consoante a conduta social das aves, sendo mais prevalentes em aves com conduta gregária/colonial (33,9% - 19/56).

**Conclusão:** A prevalência do parasitismo por malófagos nas aves estudadas é ligeiramente inferior à apresentada em outros estudos europeus, podendo este facto resultar, por exemplo da elevada humidade relativa registada nos meses do local de amostragem, tal como registado por Johnson & Clayton (2003). A maior prevalência de malófagos identificada em aves com conduta gregária está de acordo com o estudo de Rózsa *et al.* (1996) que referem que o contacto recorrente entre os indivíduos das colónias facilita a transmissão destes ectoparasitas. A maior prevalência de malófagos em Suliformes, nomeadamente de Ganso-patola (*Morus bassanus*), poderá advir do facto desta ave ser exclusivamente colonial. Apesar de todas as associações parasita-hospedeiro agora observadas já se encontrarem descritas em outros países (Price *et al.*, 2003), a ausência de estudos relativos à prevalência destes ectoparasitas em Portugal, leva a inferir que todas as espécies de malófagos identificadas neste trabalho, são relatadas pela primeira vez na fauna ectoparasitológica nacional.

# Anexo II – Póster e resumo apresentados no XVII Congresso Português de Parasitologia, Coimbra, 20-21 de Novembro de 2014



## Pesquisa de hemoprotozoários em aves selvagens de Portugal

André Tomás<sup>1\*</sup>, Maria Teresa Rebelo<sup>1</sup>, Isabel Pereira da Fonseca<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Centro de Estudos do Ambiente e do Mar/Departamento de Biologia Animal, Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, Lisboa, Portugal  
<sup>2</sup> Centro de Investigação Interdisciplinar em Sanidade Animal, Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa, Lisboa, Portugal

\*andretomas2@gmail.com






### Introdução

Os hemoparasitoides dos géneros *Haemoproteus*, *Leucocytozoon* e *Plasmodium*, frequentemente identificados no sangue periférico de aves são transmitidos por dípteros sugadores de sangue (Valiūnas, 2005).

Embora sejam geralmente considerados pouco patogénicos para aves, a existência de surtos epizooticos com possíveis impactos na dinâmica populacional destas, levam alguns autores a considerar os hemoparasitas como agentes de selecção natural (van Rooyen *et al.*, 2013).

Considerando a escassez e a restrição de estudos desta temática em Portugal, em aves de rapina, pretendeu-se com este trabalho contribuir para o incremento do conhecimento da prevalência de hemoprotozoários, não apenas em rapinas, mas também em outras ordens de aves selvagens, bem como determinar a influência de alguns factores na prevalência do parasitismo.

### Material e Métodos

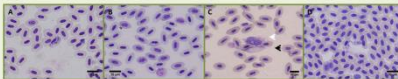
Entre Setembro e Dezembro de 2013, foram recolhidas, por venopunctura da veia ulnar, amostras de sangue de 113 aves pertencentes a 4 ordens (Accipitriformes, Charadriiformes, Passeriformes e Strigiformes) admitidas no Centro de Ecologia, Recuperação e Vigilância de Animais Selvagens (CERVAS), no Centro de Recuperação e Investigação de Animais Selvagens (RIAS), e capturadas em duas sessões de anilhagem científica no Parque Natural da Ria Formosa.

Para a pesquisa de hemoprotozoários realizaram-se esfregaços sanguíneos por escorregamento, posteriormente corados por Giemsa e observados em microscópio Olympus BX51 nas ampliações de  $\times 400$  e  $\times 1000$ .

Aplicou-se o Teste de Qui-Quadrado ( $\chi^2$ ) de Pearson às variáveis: Ordem, Idade (idade indeterminada ou jovens e adultos, baseada na maturidade sexual) e Região de proveniência (Norte ou Sul).

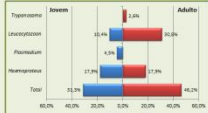
### Resultados

Foram identificados 4 géneros de hemoprotozoários (Figura 1): *Haemoproteus*, *Leucocytozoon*, *Plasmodium* e *Trypanosoma*.




**Figura 1 – Géneros parasitários identificados.** A) Macrogamétito de *Haemoproteus* spp.; B) Microgamétito de *Plasmodium* spp.; C) Macro (seta branca) e microgamétitos (seta preta) de *Leucocytozoon* spp.; D) Tripanostigota de *Trypanosoma* spp. (fotomicrografia original)

**Idade (Figura 4)**  
 Prevalência significativa de infecção por *Leucocytozoon* spp. ( $\chi^2_{(1,106)}=6,920$ ;  $p=0,009$ ) superior em aves adultas (12/39).



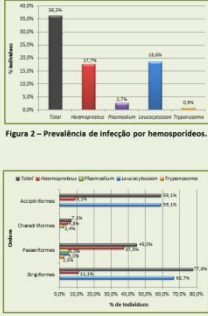
**Figura 4 – Prevalência de infecção dos géneros de hemoparasitas consoante a idade das aves.**  
 \*Não foram contabilizadas aves com idade indeterminada (n=7).

**Região (Figura 5)**  
 Prevalência significativa de infecção por pelo menos um hemoprotozoário ( $\chi^2_{(1,113)}=26,616$ ;  $p<0,001$ ) superior na região Norte (15/16).  
 Prevalência significativa de infecção por *Leucocytozoon* spp. ( $\chi^2_{(1,113)}=58,508$ ;  $p<0,001$ ) superior na região Norte (14/16).



**Figura 5 – Prevalência de infecção por hemoparasitas consoante a região de proveniência das aves.**

**Ordem (Figura 3)**  
 Prevalência significativa de infecção por pelo menos um hemoprotozoário ( $\chi^2_{(3,113)}=28,395$ ;  $p<0,001$ ) superior em Strigiformes (7/9).  
 Prevalência significativa de infecção por *Leucocytozoon* spp. ( $\chi^2_{(3,113)}=16,980$ ;  $p<0,001$ ) superior em Strigiformes (6/9).  
 Prevalência significativa de infecção por *Haemoproteus* spp. ( $\chi^2_{(3,113)}=52,075$ ;  $p<0,01$ ) superior em Passeriformes (15/40).



**Figura 3 – Prevalência de infecção por hemoparasitas consoante as ordens de aves.**

**Infecções mistas:**  
 ✓ *Haemoproteus* spp. e *Leucocytozoon* spp. – em Peneireiro-cinzento (*Elanus caeruleus*) e Águia-d'asa-redonda (*Buteo buteo*);  
 ✓ *Haemoproteus* spp. e *Trypanosoma* spp. – em Toutineira-de-barrete-preto (*Sylvia atricapilla*);  
 ✓ *Haemoproteus* spp. e *Plasmodium* spp. – em Melro-preto (*Turdus merula*).

### Conclusão

Prevalências de infecção ligeiramente superiores às observadas em Portugal (Santos *et al.*, 2008).

A sobreposição de características ecológicas entre aves e vectores, nomeadamente períodos de actividade e habitats, aparenta ser responsável pelas diferentes prevalências de infecção entre as ordens de aves.

A ausência de simuliídeos junto dos ninhos durante a época de nidificação e/ou o maior período de exposição das aves adultas aos vectores, aparenta ser responsável pela diferente prevalência de infecção do género *Leucocytozoon* entre aves jovens e adultas (Fallis *et al.*, 1974).

O decréscimo de infecção, sobretudo de *Leucocytozoon* spp., de Norte para Sul do continente europeu, é consistente com as exigências de habitat dos simuliídeos, favoráveis a Norte, pela existência de mais regiões de montanhas florestadas com cursos de água corrente (Peirce, 1981; Scheuerlein & Ricklefs, 2004).

Considerando os géneros parasitários e as espécies/ordens de aves amostradas, estes resultados contribuem para uma visão mais alargada sobre a prevalência de infecção de aves por hemoparasitoides em Portugal e sobre factores que a podem condicionar.

### Referências Bibliográficas

- FALLIS, A. M., S. S. DEDER, & R. A. KRAH. 1974. On species of leucocytozoon. *Advances in parasitology* 12: 1-47.
- PERILLI, M. A. 1981. Distribution and host-parasite check-list of the haematophagous birds in Western Europe. *Journal of Natural History* 15: 419-458.
- VAN ROOYEN, L. T., L. LUCAS, O. GUZZO, & C. GENTILE. 2013. Avian haemoprotozoan persistence and co-infection in great tits at the individual level. *Malaria journal* 12: 40.
- SANTOS, N., M. PEREIRA, P. MILU, & L. MACIELA. 2008. Pesquisa de hemoprotozoários em aves de rapina (ordens Falconiformes e Strigiformes) em centros de recuperação em Portugal. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias* 103: 195-200.
- SCHUEERLEIN, A., & R. E. RICKLEFS. 2004. Prevalence of blood parasites in European passeriform birds. *Proceedings. Biological sciences / The Royal Society* 271: 1369-70.
- VALIUNAS, G. 2005. Avian malaria parasites and other haemoparasites. *CRC Press*, USA.

### Agradecimentos

Um agradecimento especial a Thijl Valkenburg, Fátima Azevedo, Hugo Lopes, Ricardo Brandão, Lúcia Gomes, Ana Margarida Carvalho, Maria Caserio, António Cidre, Bernardo Melo Franco e Rita Carneiro, por todo o apoio e ensinamentos.

Financiamento: Projecto PEX-OE/AGR/00276/2014 (FCT)

# Pesquisa de hemoprotozoários em aves selvagens de Portugal

André Tomás<sup>1</sup>, Maria Teresa Rebelo<sup>1</sup>, Isabel Pereira da Fonseca<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Centro de Estudos do Ambiente e do Mar/Departamento de Biologia Animal, Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, Lisboa, Portugal

<sup>2</sup> Centro de Investigação Interdisciplinar em Sanidade Animal, Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa, Lisboa, Portugal

**Introdução:** Os hemosporídeos dos géneros *Haemoproteus*, *Leucocytozoon* e *Plasmodium*, frequentemente identificados no sangue periférico de aves, apresentam uma distribuição cosmopolita, com excepção da Antárctida (Valkiūnas, 2005). Apesar dos hemoprotozoários serem geralmente considerados pouco patogénicos para aves, a existência de surtos epizooticos com possíveis impactos na dinâmica populacional das aves (Valkiūnas, 2005), levam alguns autores a considerar os hemoparasitas como agentes de selecção natural (van Rooyen *et al.* 2013). Considerando que os estudos desta temática em Portugal são praticamente restritos a aves de rapina, pretendeu-se com este trabalho contribuir para o incremento do conhecimento da prevalência de hemoprotozoários, não apenas em rapinas, mas em outras ordens de aves selvagens.

**Material e Métodos:** Entre Setembro e Dezembro de 2013, foram recolhidas, por venopunctura da veia ulnar, amostras de sangue de 113 aves pertencentes a 4 ordens (Accipitriformes, Charadriiformes, Passeriformes e Strigiformes) admitidas no CERVAS, Centro de Ecologia, Recuperação e Vigilância de Animais Selvagens (Norte), no RIAS, Centro de Recuperação e Investigação de Animais Selvagens (Sul), e capturadas em duas sessões de anilhagem científica no Parque Natural da Ria Formosa (Sul). Para a pesquisa de hemoprotozoários realizaram-se esfregaços por escorregamento, posteriormente corados pelo Giemsa e observados ao microscópio óptico em ampliações de  $\times 400$  e  $\times 1000$ .

**Resultados:** No total das amostras identificaram-se 4 géneros de hemoprotozoários: *Haemoproteus*, *Leucocytozoon*, *Plasmodium* e *Trypanosoma*, sendo *Leucocytozoon* o mais frequente (18,6% - 21/113). A prevalência total de infecção por pelo menos um hemoprotozoário foi de 36,3 % (41/113), sendo significativamente mais prevalente em Strigiformes (77,8% - 7/9). A prevalência de *Leucocytozoon* spp. e *Haemoproteus* spp., foi significativamente maior em Strigiformes (66,7% - 6/9) e Passeriformes (37,5% - 15/40), respectivamente. A prevalência de infecção por pelo menos um género de protozoário e de infecção por *Leucocytozoon* spp. foi estatisticamente diferente entre regiões, sendo em ambos os casos superiores na região Norte (respectivamente: 93,8% - 15/16; 87,5% - 14/16). Foram identificadas associações estatisticamente significativas na prevalência de *Leucocytozoon* spp. consoante a idade das aves, sendo mais prevalente em aves adultas (30,8% - 12/39). Infecções mistas foram identificadas em quatro aves: Peneireiro-cinzento (*Elanus caeruleus*) e Águia-d'asa-redonda (*Buteo buteo*) (*Haemoproteus* spp. e *Leucocytozoon* spp.), Toutinegra-de-barrete-preto (*Sylvia atricapilla*) (*Haemoproteus* spp. e *Trypanosoma* spp.) e Melro-preto (*Turdus merula*) (*Haemoproteus* spp. e *Plasmodium* spp.).

**Conclusão:** Apesar da abrangência de ordens de aves, as prevalências de infecção por hemoprotozoários agora encontradas são ligeiramente superiores às observadas em outros estudos feitos em Portugal e corroboram a ideia de que existe um decréscimo na prevalência de infecção de Norte para Sul ao longo do continente europeu, sobretudo do género *Leucocytozoon* (Peirce, 1981). A elevada prevalência dos géneros *Leucocytozoon* e *Haemoproteus* em Strigiformes e Passeriformes respectivamente, aparenta ser consequência da sobreposição de características ecológicas entre aves e vectores (ex. períodos de actividade e habitats). As diferenças na prevalência de infecção por *Leucocytozoon* spp. consoante a idade das aves é consistente com os resultados de Fallis *et al.* (1974). Apesar de todas as associações parasita-hospedeiro verificadas já se encontrarem descritas, considerando os géneros parasitas e as espécies/ordens de aves amostradas, estes resultados contribuem para uma visão mais alargada sobre infecção de aves por hemosporídeos em Portugal.

**Anexo III – Protocolo de coloração *Giemsa* utilizado no Laboratório de Parasitologia e Doenças Parasitárias da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa**

- 1º - Colocar os esfregaços secos num suporte sobre um tabuleiro;
- 2º - Cobrir os esfregaços com metanol (Merck® 1.06009.2511) durante 1 minuto, de modo a ocorrer a segunda fixação. Deixar secar;
- 3º - Colocar o corante Giemsa (Merck® 1.09204.2500) sobre a lâmina cobrindo o esfregaço e deixar actuar durante 30 segundos a 1 minuto;
- 4º - Retirar o excesso de corante, passando a lâmina sob água corrente;
- 5º - Deixar a lâmina na posição vertical num suporte até que esteja totalmente seca.

**Anexo IV – Protocolo de preparação das amostras de piolhos seguindo a técnica de Bálamo do Canadá** (adaptado de: Palma, 1978).

- 1º - Seleção dos espécimes: Seleccionar os espécimes a preparar, dando sempre preferência a exemplares em bom estado, com patas e antenas estendidas e sem conteúdo estomacal.
- 2º - Maceração e descoloração: Os espécimes seleccionados e pertencentes ao mesmo hospedeiro, devem ser colocados em recipientes individuais, e expostos à solução aquosa de hidróxido de potássio a 20% (Merck® 1.05029.1000), à temperatura ambiente, durante um período de 15-35 horas. O tempo de tratamento é directamente proporcional ao tamanho e pigmentação dos exemplares, contudo de forma a evitar potenciais danos provocados pelo excesso de tempo, as amostras devem ser frequentemente verificadas. Por vezes é necessária a extensão das patas e antenas e a aplicação de uma punção abdominal suave com recurso a material de dissecação, para eliminação de todos os órgãos internos.
- 3º - Neutralização: Remoção do hidróxido de potássio e substituição por água durante 30 minutos. Terminado esse tempo, a água é substituída por solução aquosa de ácido acético a 10 % (Merck® 8.18755.2500), durante 30-40 minutos. No caso de exemplares de maiores dimensões poder-se-á repetir a aplicação da solução aquosa de ácido acético.
- 4º - Coloração: Após a neutralização retirar solução aquosa de ácido acético e expor as amostras a solução aquosa de fucsina ácida altamente concentrada (90%) (Merck® 1.05231.0025), por um período de 8-16 horas, à temperatura ambiente. Findo esse tempo adicionar etanol a 70% à fucsina ácida e de seguida substituir a mistura resultante apenas por etanol a 70%. O processo de adição de etanol deve ser repetido, até a solução resultante ser incolor. Pressionar suavemente os espécimes acelerará a remoção do excesso de corante.
- 5º - Desidratação: Aos espécimes corados adicionar gradualmente etanol de 40%, 70% e 96% (Merck® 1.07017.9026), durante 30-40 minutos cada, à temperatura ambiente. O período de tempo de aplicação de etanol pode ser prolongado, contudo é essencial evitar a evaporação total do etanol de forma a impedir a deterioração dos espécimes.

- 6º -Clarificação: Após a desidratação, substituir o etanol por óleo de cravo puro (comercial), de forma a cobrir toda a amostra e deixar a actuar, pelo menos durante 24 horas. Como as amostras tendem a flutuar após a aplicação do óleo de cravo, recomenda-se a verificação dos espécimes e se necessário, submergi-los com a ajuda de uma pinça.
- 7º -Identificação das lâminas: Etiquetar as lâminas, com duas etiquetas dispostas nas duas extremidades da lâmina, a da esquerda com informações referentes à espécie e a da direita com informações referentes à recolha, conforme demonstrado na Figura 9.
- 8º -Montagem: Com as lâminas etiquetadas e tendo em conta a orientação das etiquetas, colocar os respectivos espécimes com a cabeça para baixo, no centro das lâminas. Posteriormente colocar meio de Hoyer sobre a amostra, cobrir com uma lamela e com a ajuda de uma lanceta pressiona-la para que o meio de montagem cubra uma área maior que a utilizada pela lamela. De notar que a quantidade de meio de montagem a aplicar sobre a amostra é directamente proporcional às suas dimensões. Minutos após a montagem, colocar um peso sobre o centro da lamela e deixar a actuar durante a noite, impedindo que durante o processo de secagem, se criem espaços vazios nos cantos da lamela, resultantes do encolhimento do meio de Hoyer e pela inclinação da lamela.
- 9º -Secagem: Para garantir a secagem do meio de Hoyer, colocar as lâminas na estufa a 50°C durante cerca de três semanas, sendo o tempo de secagem directamente proporcional à espessura da camada do meio de montagem. Durante o processo de montagem, eventuais bolhas de ar formadas neste, serão eliminados durante o tempo de permanência na estufa.



## **Anexo V – Preparação do Meio de Hoyer**

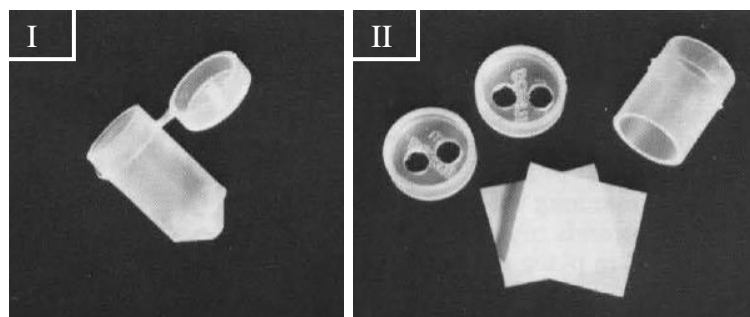
- 1º - Juntar 50mL água destilada a 30g de goma-arábica cristalizada (BDH® 33001) e levar ao lume até ferver mexendo bem, para dissolver o mais possível.
- 2º - Após a dissolução da goma-arábica, adicionar 300g de hidrato de cloral (Merck® 1.02425.1000) até completar a dissolução deste.
- 3º - Deixar arrefecer um pouco e juntar 20mL de glicerina (Merck® 8.18709.5000).
- 4º - Filtrar através de uma gaze, as vezes que forem necessárias.

**Anexo VI – Protocolo de fixação de helmintes** (adaptado de Amato & Amato, 2010).

- 1º - Após recolher os helmintes, colocá-los numa placa de Petri com água destilada e coloca-las no frigorífico, até à sua morte.
- 2º - Mergulharam-se na mistura fixadora A.F.A. (Etanol 70% (93 partes) (Merck® 1.07017.9026), Formaldeído 37% (5 partes) (Merck® 1.03999.1000) e ácido acético puro (2 partes) (Merck® 8.18755.2500)), durante 48 horas.
- 3º - Conservar os espécimes individualmente até à sua observação, em tubos contendo Etanol a 70% glicerinado a 2% (Merck® 1.04091.2500) devidamente identificados com o número da amostra, o nome científico da espécie, data da colheita e o órgão onde foi encontrado.

**Anexo VII – Protocolo de preparação das amostras de helmintes para MEV**  
(adaptado de: Amato & Amato, 2010).

1º -Modificar cápsulas BEEM® Capsules (Imagem I) (gentilmente cedidas pelo Doutor John D. Eisenbach), cortando a extremidade cônica e retirando a tampa, de forma a obter um cilindro. Fazer dois furos na tampa retirada e dois furos numa tampa retirada de outra cápsula (Imagem II). Na extremidade inferior do cilindro colocar uma das tampas com um pequeno quadrado de filtro de *nylon* (procedimento adaptado de: Eisenback, 1985).



- 2º -Transferir os helmintes para placas de Petri, ou para cápsulas modificadas, no caso de helmintes pequenos e frágeis. Fechar a cápsula com a outra tampa e filtro de *nylon*, e colocá-la numa placa de Petri funda.
- 3º -Desidratar os helmintes com a adição de, etanol puro (repetir o processo 3 vezes), misturas de etanol-acetona, com concentração gradual de acetona (Merck® 1.00014.2511): i) Etanol puro (80 partes) e Acetona (20 partes); ii) Etanol puro (50 partes) e Acetona (50 partes); iii) Etanol puro (20 partes) e Acetona (80 partes); e acetona (repetir o processo 3 vezes). Deixar cada solução actuar durante 30 minutos, sempre com as placas de Petri fechadas para evitar evaporação.
- 4º -Conservar os helmintes em frascos com acetona.
- 5º -Secar as amostras com CO<sub>2</sub> através do ponto crítico.
- 6º -Montar as amostras sobre fita-cola preta de dupla-face num suporte metálico de pionés.
- 7º -Metalizar com ouro num equipamento JEOL JFC-1200.

**Anexo VIII – Tabela resumida de espécies de aves (agrupadas por ordens e famílias) amostradas para hemoparasitas e respectiva prevalência**

Hospedeiro (nome comum)	<i>n</i>	Infectados (%)	Infectados por <i>Haemoproteus</i> (%)	Infectados por <i>Plasmodium</i> (%)	Infectados por <i>Leucocytozoon</i> (%)	Infectados por <i>Trypanosoma</i> (%)
<i>Accipiter nisus</i> (Gavião)	3	3 (100,00)*	-	-	3 (100,00)*	-
<i>Aegypius monachus</i> (Abutre-preto)	1	1 (100,00)*	-	-	1 (100,00)*	-
<i>Aquila pennata</i> (Águia-calçada)	2	1 (50,00)*	-	-	1 (50,00)*	-
<i>Buteo buteo</i> (Águia-d'asa-redonda)	9	7 (77,78)	1 (11,11)	-	7 (77,78)	-
<i>Elanus caeruleus</i> (Peneireiro-cinzento)	1	1 (100,00)*	1 (100,00)*	-	1 (100,00)*	-
<i>Gyps fulvus</i> (Grifo)	6	-	-	-	-	-
<b>Família Accipitridae</b>	22	13 (59,09)	2 (9,09)	-	13 (59,09)	-
<b>Ordem Accipitriformes</b>	22	13 (59,09)	2 (9,09)	-	13 (59,09)	-
<i>Anas crecca</i> (Marrequinha-comum)	1	-	-	-	-	-
<b>Família Anatidae</b>	1	-	-	-	-	-
<b>Ordem Anseriformes</b>	1	-	-	-	-	-
<i>Burhinus oedicephalus</i> (Alcaravão)	1	-	-	-	-	-
<b>Família Burhinidae</b>	1	-	-	-	-	-
<i>Pluvialis squatarola</i> (Tambora-cinzenta)	2	1 (50,00)*	1 (50,00)*	-	-	-
<b>Família Charadriidae</b>	2	1 (50,00)*	1 (50,00)*	-	-	-
<i>Chroicocephalus ridibundus</i> (Guincho-comum)	7	-	-	-	-	-
<i>Larus fuscus</i> (Gaivota-d'asa-escura)	4	-	-	-	-	-
<i>Larus michahellis</i> (Gaivota-de-patas-amarelas)	12	1 (8,33)	1 (8,33)	-	-	-
<b>Família Laridae</b>	23	1 (4,35)	1 (4,35)	-	-	-
<i>Calidris alpina</i> (Pilrito-comum)	14	1 (7,14)	-	1 (7,14)	-	-
<i>Charadrius hiaticula</i> (Borrelho-grande-de-coleira)	1	-	-	-	-	-
<i>Scolopax rusticola</i> (Galinholha)	2	-	-	-	-	-
<b>Família Scolopacidae</b>	17	1 (5,88)	-	1 (5,88)	-	-
<b>Ordem Charadriiformes</b>	43	3 (6,98)	2 (4,65)	1 (2,33)	-	-

\*Apesar da alta taxa de prevalência é de notar o baixo número de aves amostradas

**Anexo VIII (continuação) – Tabela resumida de espécies de aves ( agrupadas por ordens e famílias) amostradas para hemoparasitas e respectiva prevalência**

Hospedeiro (nome comum)	<i>n</i>	Infectados (%)	Infectados por <i>Haemoproteus</i> (%)	Infectados por <i>Plasmodium</i> (%)	Infectados por <i>Leucocytozoon</i> (%)	Infectados por <i>Trypanosoma</i> (%)
<i>Certhia brachydactyla</i> (Trepadeira-comum)	1	-	-	-	-	-
<b>Família Certhiidae</b>	1	-	-	-	-	-
<i>Corvus corone</i> (Gralha-preta)	1	1 (100,00)*	-	-	1 (100,00)*	-
<i>Cyanopica cyanus</i> (Pega-azul)	1	-	-	-	-	-
<b>Família Corvidae</b>	2	1 (50,00)*	-	-	1 (50,00)*	-
<i>Phylloscopus collybita</i> (Felosa-comum)	4	-	-	-	-	-
<i>Sylvia atricapilla</i> (Toutinegra-de-barrete-preto)	13	8 (61,54)	8 (61,54)	-	-	1 (7,69)
<i>Sylvia borin</i> (Felosa-das-figueiras)	4	2 (50,00)*	2 (50,00)*	-	-	-
<i>Sylvia melanocephala</i> (Toutinegra-de-cabeça-preta)	2	-	-	-	-	-
<b>Família Sylviidae</b>	23	10 (43,48)*	10 (43,48)	-	-	1 (4,35)
<i>Erithacus rubecula</i> (Pisco-de-peito-ruivo)	1	-	-	-	-	-
<i>Phoenicurus ochruros</i> (Rabiruívo-preto)	1	-	-	-	-	-
<i>Turdus merula</i> (Melro-preto)	9	6 (66,67)	5 (55,56)	2 (22,22)	-	-
<i>Turdus philomelos</i> (Tordo-pinto)	3	1 (33,33)	-	-	1 (33,33)	-
<b>Família Turdidae</b>	14	7 (50,00)	5 (35,71)	2 (14,29)	1 (7,14)	-
<b>Ordem Passeriformes</b>	40	18 (45,00)	15 (37,50)	2 (5,00)	2 (5,00)	1 (2,50)
<i>Ardea cinerea</i> (Garça-real)	3	1 (33,33)	-	-	1 (33,33)	-
<i>Bubulcus ibis</i> (Garça-boieira)	3	-	-	-	-	-
<b>Família Ardeidae</b>	6	1 (16,67)	-	-	1 (16,67)	-
<b>Ordem Pelecaniformes</b>	6	1 (16,67)	-	-	1 (16,67)	-
<i>Phoenicopterus roseus</i> (Flamingo)	2	1 (50,00)*	-	-	1 (50,00)*	-
<b>Família Phoenicopteridae</b>	2	1 (50,00)*	-	-	1 (50,00)*	-
<b>Ordem Phoenicopteriformes</b>	2	1 (50,00)*	-	-	1 (50,00)*	-

\*Apesar da alta taxa de prevalência é de notar o baixo número de aves amostradas

**Anexo VIII (continuação) – Tabela resumida de espécies de aves (agrupadas por ordens e famílias) amostradas para hemoparasitas e respectiva prevalência**

Hospedeiro (nome comum)	<i>n</i>	Infectados (%)	Infectados por <i>Haemoproteus</i> (%)	Infectados por <i>Plasmodium</i> (%)	Infectados por <i>Leucocytozoon</i> (%)	Infectados por <i>Trypanosoma</i> (%)
<i>Athene noctua</i> (Mocho-galego)	4	2 (50,00)*	-	-	2 (50,00)*	-
<i>Bubo bubo</i> (Bufo-real)	3	3 (100,00)*	-	-	3 (100,00)*	-
<i>Strix aluco</i> (Coruja-do-mato)	1	1 (100,00)*	-	-	1 (100,00)*	-
<b>Família Strigidae</b>	8	6 (75,00)	-	-	6 (75,00)	-
<i>Tyto alba</i> (Coruja-das-torres)	1	1 (100,00)*	1 (100,00)*	-	-	-
<b>Família Tytonidae</b>	1	1 (100,00)*	1 (100,00)*	-	-	-
<b>Ordem Strigiformes</b>	9	7 (77,78)	1 (11,11)	-	6 (66,67)	-
<i>Morus bassanus</i> (Ganso-patola)	5	-	-	-	-	-
<b>Família Sulidae</b>	5	-	-	-	-	-
<b>Ordem Suliformes</b>	5	-	-	-	-	-
<b>Total</b>	128	43 (33,59)	20 (15,63)	3 (2,34)	23 (17,97)	1 (0,78)

\*Apesar da alta taxa de prevalência é de notar o baixo número de aves amostradas

**Anexo IX – Tabela resumida de espécies de aves (agrupadas por ordens e famílias) amostradas para malófagos e respectiva prevalência**

Hospedeiro (nome comum)	<i>n</i>	Infectados (%)	Malófagos (%)
<i>Accipiter nisus</i> (Gavião)	1	-	-
<i>Aegypius monachus</i> (Abutre-preto)	1	-	-
<i>Aquila fasciata</i> (Águia-de-Bonelli)	1	1 (100,00)*	<i>Degeeriella fulva</i> (100,00)
<i>Aquila pennata</i> (Águia-calçada)	1	-	-
			<i>Degeeriella fulva</i> (50,00)
<i>Buteo buteo</i> (Águia-d'asa-redonda)	2	1 (50,00)*	<i>Craspedorrhynchus platystomus</i> (50,00)
			<i>Laemobothrion maximum</i> (50,00)
<i>Elanus caeruleus</i> (Peneireiro-cinzento)	1	-	-
			<i>Falcolipeurus quadripustulatus</i> (83,33)
<i>Gyps fulvus</i> (Grifo)	6	6 (100)	<i>Laemobothrion vulturis</i> (66,67)
			<i>Nosopon casteli</i> (16,67)
			<i>Colpocephalum turbinatum</i> (50,00)
<b>Família Accipitridae</b>	13	8 (61,54)	
<b>Ordem Accipitriformes</b>	13	8 (61,54)	
<i>Anas crecca</i> (Marrequinha-comum)	1	1 (100,00)*	<i>Trinoton querquedulae</i> (100,00)
<b>Família Anatidae</b>	1	1 (100,00)*	
<b>Ordem Anseriformes</b>	1	1 (100,00)*	
<i>Upupa epops</i> (Poupa)	1	-	-
<b>Família Upapidae</b>	1	-	
<b>Ordem Bucerotiformes</b>	1	-	

\*Apesar da alta taxa de prevalência é de notar o baixo número de aves amostradas

**Anexo IX (continuação) – Tabela resumida de espécies de aves (agrupadas por ordens e famílias) amostradas para malófagos e respectiva prevalência**

Hospedeiro (nome comum)	<i>n</i>	Infectados (%)	Malófagos (%)
<i>Burhinus oedicephalus</i> (Alcaravão)	1	-	-
<b>Família Burhinidae</b>	1	-	
<i>Pluvialis squatarola</i> (Tarambola-cinzenta)	2	-	-
<b>Família Charadriidae</b>	2	-	
<i>Chroicocephalus ridibundus</i> (Guincho-comum)	7	-	-
<i>Larus fuscus</i> (Gaivota-d'asa-escura)	4	-	-
<i>Larus michahellis</i> (Gaivota-de-patas-amarelas)	14	4 (28,57)	<i>Actornithophilus piceus lari</i> (28,57)
<b>Família Laridae</b>	25	4 (16,00)	
<i>Himantopus himantopus</i> (Pernilongo)	1	-	-
<b>Família Recurvirostridae</b>	1	-	
			<i>Lunaceps schismatus</i> (14,29)
<i>Calidris alpina</i> (Pilrito-comum)	14	4 (28,57)	<i>Actornithophilus umbrinus</i> (21,43)
			<i>Austromenopon lutescens</i> (7,14)
<i>Charadrius hiaticula</i> (Borrelho-grande-de-coleira)	1	-	-
<i>Scolopax rusticola</i> (Galinholha)	2	-	-
<b>Família Scolopacidae</b>	17	4 (23,53)	
<b>Ordem Charadriiformes</b>	46	8 (17,39)	
<i>Fulica atra</i> (Galeirão-comum)	1	1 (100,00)*	<i>Pseudomenopon pilosum</i> (100,00)
<b>Família Rallidae</b>	1	1 (100,00)*	
<b>Ordem Gruiformes</b>	1	1 (100,00)*	

\*Apesar da alta taxa de prevalência é de notar o baixo número de aves amostradas



**Anexo IX (continuação) – Tabela resumida de espécies de aves (agrupadas por ordens e famílias) amostradas para malófagos e respectiva prevalência**

Hospedeiro (nome comum)	<i>n</i>	Infectados (%)	Malófagos (%)
<i>Certhia brachydactyla</i> (Trepadeira-comum)	1	-	-
<b>Família Certhiidae</b>	1	-	
<i>Cyanopica cyanus</i> (Pega-azul)	1	-	-
<b>Família Corvidae</b>	1	-	
<i>Phylloscopus collybita</i> (Felosa-comum)	4	-	-
<i>Sylvia atricapilla</i> (Toutinegra-de-barrete-preto)	13	-	-
<i>Sylvia borin</i> (Felosa-das-figueiras)	4	-	-
<i>Sylvia melanocephala</i> (Toutinegra-de-cabeça-preta)	2	-	-
<b>Família Sylviidae</b>	23	-	
<i>Erithacus rubecula</i> (Pisco-de-peito-ruivo)	1	-	-
<i>Phoenicurus ochruros</i> (Rabiruívo-preto)	1	-	-
<i>Turdus merula</i> (Melro-preto)	9	-	-
<i>Turdus philomelos</i> (Tordo-pinto)	3	-	-
<b>Família Turdidae</b>	14	-	
<b>Ordem Passeriformes</b>	39	-	
<i>Ardea cinerea</i> (Garça-real)	1	-	-
<i>Bubulcus ibis</i> (Garça-boieira)	4	-	-
<b>Família Ardeidae</b>	5	-	
<b>Ordem Pelecaniformes</b>	5	-	
<i>Phoenicopterus roseus</i> (Flamingo)	2	2 (100,00)*	<i>Colpocephalum heterossoma</i> (100,00) <i>Trinoton femoratum</i> (50,00)
<b>Família Phoenicopteridae</b>	2	2 (100,00)*	
<b>Ordem Phoenicopteriformes</b>	2	2 (100,00)*	

\*Apesar da alta taxa de prevalência é de notar o baixo número de aves amostradas

**Anexo IX (continuação) – Tabela resumida de espécies de aves (agrupadas por ordens e famílias) amostradas para malófagos e respectiva prevalência**

Hospedeiro (nome comum)	<i>n</i>	Infectados (%)	Malófagos (%)
<i>Athene noctua</i> (Mocho-galego)	5	-	-
<i>Bubo bubo</i> (Bufo-real)	2	1 (50,00)*	<i>Strigiphilus</i> sp. (50,00)
<b>Família Strigidae</b>	7	1 (14,29)	
<b>Ordem Strigiformes</b>	7	1 (14,29)	
<i>Morus bassanus</i> (Ganso-patola)	7	5 (71,43)	<i>Pectinopygus bassani</i> (71,43) <i>Eidmanniella pustulosa</i> (57,14)
<b>Família Sulidae</b>	7	5 (71,43)	
<b>Ordem Suliformes</b>	7	5 (71,43)	
<b>Total</b>	122	26 (21,31)	

\*Apesar da alta taxa de prevalência é de notar o baixo número de aves amostradas

**Anexo X – Tabela resumida de espécies de aves (agrupadas por ordens e famílias) amostradas para helmintes, com respectiva prevalência, localização no hospedeiro e intensidade média do parasitismo.**

Hospedeiro (nome comum)	<i>n</i>	Infectados (%)	Helmintes identificados	Localização	%	Intensidade média
<i>Aquila fasciata</i> (Águia-de-Bonelli)	1	1 (100,00)*	<i>Porrocaecum</i> sp.	Intestino delgado	100,00	5,00
<i>Elanus caeruleus</i> (Peneireiro-cinzento)	1	1 (100,00)*	<i>Synhimantus</i> ( <i>S.</i> ) <i>laticeps</i>	Moela	100,00	4,00
<b>Família Accipitridae</b>	2	2 (100,00)*				
<b>Ordem Accipitriformes</b>	2	2 (100,00)*				
<i>Upupa epops</i> (Poupa)	1	1 (100,00)*	<i>Neyraia</i> sp.	Intestino grosso	100,00	1,00
<b>Família Upapidae</b>	1	1 (100,00)*				
<b>Ordem Bucerotiformes</b>	1	1 (100,00)*				
<i>Caprimulgus europaeus</i> (Noitibó-cinzento)	1	-	-	-	-	-
<b>Família Caprimulgidae</b>	1	-				-
<b>Ordem Caprimulgiformes</b>	1	-				-
<i>Larus fuscus</i> (Gaivota-d'asa-escura)	1	1 (100,00)*	<i>Tetrabothrius</i> sp.	Intestino grosso	100,00	2,00
<i>Larus michahellis</i> (Gaivota-de-patas-amarelas)	3	1 (33,33)	<i>Cosmocephalus obvelatus</i>	Proventrículo	33,33	1,00
<b>Família Laridae</b>	4	2 (50,00)*				
<i>Himantopus himantopus</i> (Pernilongo)	1	1 (100,00)*	<i>Diplophallus</i> sp.	Intestino grosso	100,00	3,00
<b>Família Recurvirostridae</b>	1	1 (100,00)*				
<b>Ordem Charadriiformes</b>	5	3 (60,00)*				
<i>Ardea cinerea</i> (Garça-real)	1	-	-	-	-	-
<i>Bubulcus ibis</i> (Garça-boeira)	2	2 (100,00)*	<i>Desportesius invaginatus</i>	Moela	100,00	2,50
<b>Família Ardeidae</b>	3	2 (66,67)*				
<b>Ordem Pelecaniformes</b>	3	2 (66,67)*				

\*Apesar da alta taxa de prevalência é de notar o baixo número de aves amostradas

**Anexo X (continuação) – Tabela resumida de espécies de aves (agrupadas por ordens e famílias) amostradas para helmintes, com respectiva prevalência, localização no hospedeiro e intensidade média do parasitismo.**

Hospedeiro (nome comum)	<i>n</i>	Infectados (%)	Helmintes identificados	Localização	%	Intensidade média
<i>Athene noctua</i> (Mocho-galego)	3	2 (66,67)*	<i>Synhimantus (Dispharynx) nasuta</i>	Esófago e Proventrículo	66,67	4,00
<i>Bubo bubo</i> (Bufo-real)	1	-	-	-	-	-
<b>Família Strigidae</b>	4	2 (50,00)*				
<b>Ordem Strigiformes</b>	4	2 (50,00)*				
<i>Morus bassanus</i> (Ganso-patola)	6	2 (33,33)	<i>Contracaecum</i> sp.	Esófago, Moela e Proventrículo	33,33	1,50
<b>Família Sulidae</b>	6	2 (33,33)				
<b>Ordem Suliformes</b>	6	2 (33,33)				
<b>Total</b>	22	12 (54,55)				

\*Apesar da alta taxa de prevalência é de notar o baixo número de aves amostradas

